

**MIPA dan SAIN****LAPORAN PENELITIAN UNGGULAN UNY  
TAHUN ANGGARAN 2015****BIOPROSPEKSI BAKTERI TERMOFILIK PASCA ERUPSI  
MERAPI UNTUK BIOREMEDIASI LIMBAH LOGAM BERAT****Oleh:****Anna Rakhmawati, M.Si****Evy Yulianti, M.Sc**

Dibiayai oleh DIPa BLU Universitas Negeri Yogyakarta dengan Surat  
Perjanjian Penugasan dalam rangka Pelaksanaan Program Penelitian  
Unggulan Tahun Anggaran 2015 Nomor: 311a/LT-UNG/UN34.21/2015

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT  
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA  
2015**

**LEMBAR PENGESAHAN  
LAPORAN PENELITIAN UNGGULAN UNY**

1. Judul Penelitian : Bioprospeksi Bakteri Termofilik  
Pasca Erupsi Merapi untuk Bioremediasi  
Limbah Logam Berat
2. Ketua Peneliti :  
a. Nama lengkap : Anna Rakhmawati, M.Si  
b. Jabatan : Lektor  
c. Jurusan : Pendidikan Biologi  
d. Alamat surat : Jurdik Biologi FMIPA UNY  
e. Telepon rumah/kantor/HP : 081328076689  
f. Faksimili : -  
g. e-mail : [anna\\_rakhmawati@uny.ac.id](mailto:anna_rakhmawati@uny.ac.id)  
[wannawijaya@yahoo.com](mailto:wannawijaya@yahoo.com)
3. Tema Payung Penelitian : Kesehatan dan Lingkungan
4. Skim penelitian : Lemlit
5. Program Strategis Nasional : Perubahan iklim, pelestarian, dan  
pengendalian lingkungan
6. Bidang Keilmuan/Penelitian : MIPA dan Sain
7. Tim Peneliti

No	Nama dan Gelar	Bidang Keahlian
1.	Evy Yulianti, M.Sc	Biokimia

8. Mahasiswa yang terlibat :

No	Nama	N I M
1.	Futicha S.M	11308141019
2.	Ratna Yunitasari	11308141029
3.	Ulil Kususiyati	11308141011

9. Lokasi Penelitian : Lab. Mikrobiologi dan Biokimia FMIPA  
UNY; Lab. Analisis Instrumentasi, Pusat  
Pendidikan dan Pelatihan Industri, SMK  
SMTI Yogyakarta serta Lab. Kimia Analitik  
Jurusan Kimia FMIPA UGM.
10. Waktu Penelitian : 7 bulan
11. Dana yang diusulkan : Rp. 20.000.000,- (Dua Puluh Juta Rupiah)

Yogyakarta, 26 Oktober 2015

Mengetahui  
Dekan FMIPA UNY

Ketua Tim Peneliti,

(Dr.Hartono)  
NIP. 196203291987021002

(Anna Rakhmawati, M.Si.)  
NIP. 197701022001122002

Mengetahui  
Ketua LPPM UNY

Prof. Dr. Anik Gufron, M.Pd  
NIP. 19621111 198803 1 001

# **BIOPROSPEKSI BAKTERI TERMOFILIK PASCA ERUPSI MERAPI UNTUK BIOREMEDIASI LIMBAH LOGAM BERAT**

**Anna Rakhmawati, M.Si; Evy Yulianti, M.Sc**

## **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan mengembangkan potensi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi untuk bioremediasi limbah logam berat. Logam berat yang digunakan yaitu Cu, Pb, dan Cd. Penelitian diawali dengan uji kemampuan tumbuh isolat bakteri pada berbagai konsentrasi logam berat. Setelah didapatkan kurva pertumbuhan dari masing-masing isolat bakteri terpilih maka dilakukan uji efektivitas meliputi penentuan ion logam berat yang diremediasi oleh bakteri terpilih pada konsentrasi, waktu (jam ke-0, fase eksponensial, stasioner); pH (6,7,8); dan suhu (45,55,65 °C) optimal. Sehingga akan diketahui strategi bioremediasi limbah logam berat oleh masing-masing isolat.

Hasil skrining menunjukkan dari 28 isolat bakteri yang diperoleh dengan metode *dilution* didapatkan 18 isolat mampu hidup sampai konsentrasi Cu 30 ppm, 22 isolat bertahan pada konsentrasi Pb 50 ppm, sedangkan 13 isolat dapat hidup pada konsentrasi Cd 1 ppm dengan suhu inkubasi 55 °C. Tahap optimasi dilakukan pada dua isolat yang memiliki kemampuan hidup paling baik pada masing-masing logam berat. Isolat D2 dan D95 pada logam berat Cu, D2 dan D19 pada logam berat Pb, sedangkan D2 dan D92 pada logam berat Cd. Hasil optimasi menunjukkan perbedaan kemampuan isolat bakteri termofilik dalam mendegradasi logam berat pada konsentrasi, pH, dan suhu tertentu setelah memasuki fase stasioner 48 jam. Isolat D95 memiliki kemampuan optimal menyerap 20 ppm Cu pada pH 6 suhu 65 °C sebesar 29,21%. Penyerapan 8 ppm Pb optimal oleh isolat D19 sebesar 73,19% pada pH 7 dan suhu 45 °C. Sedangkan penyerapan 5 ppm Cd optimal sebesar 66,97% oleh isolat D92 pada pH 7 suhu 55 °C.

Kata kunci: bioprospeksi, bakteri, termofilik, bioremediasi

## **Bioprospection of Thermophilic Bacteria after Merapi Eruption for Bioremediation of Heavy Metal Pollutant**

**Anna Rakhmawati, M.Si; Evy Yulianti, M.Sc**

The purpose of this research was to develop potential of thermophilic bacteria after merapi eruption for bioremediation of heavy metal pollutant. Heavy metal that we used were Cu, Pb, and Cd. This research started by growth capability test of bacterial isolate at various concentration of heavy metal. After we got the growth curve for each bacterial isolate, we did efectivity test including determination of heavy metal ion which remediated by choosen bacteria in optimum concentration, time (0 hrs, exponential phase, stationer phase); pH (6,7,8); and temperature (45,55,65 °C). From this experiment we knew the bioremediation strategy of heavy metal pollutant by each isolate.

Screening result showed that from 28 bacterial isolates we got from dilution method there were 18 isolates which could live until the concentration of Cu 30 ppm, 22 isolates could live until concentration of Pb 50 ppm, and 13 isolates could live at concentration of Cd 1 ppm with incubation temperature 55 °C. Optimation step was done toward 2 isolates which have better capabilty of life in each heavy metal isolate D2 and D95 in Cu, D2 and D19 in Pb, D2 and D92 in Cd. Optimation results showed different of thermophilic bacteria capability in degraded heavy metal at different concentration, pH, and temperature after entering stationery phase 48 hours. Isolate D95 at optimum capability absorbing 20 ppm Cu at pH 6, temperature 65°C up to 29,21%. The optimum absorbtion of 8 ppm Pb by isolate D19 up to 37,19% at pH 7 and temperature 45°C. The optimum absorbtion of 5 ppm Cd up to 66,97% by isolate D92 at pH 7 temperature 55°C.

**Keywords :** bioprospection, bacteria, thermophillic, bioremediation

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT atas selesainya penelitian Unggulan UNY 2015 dengan judul "Bioprospeksi Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi untuk Bioremediasi Limbah Logam Berat".

Penelitian ini merupakan salah satu penelitian dari dana DIPA UNY Tahun Anggaran 2015. Pelaksanaan penelitian berlangsung selama 6 bulan.

Ucapan terima kasih kami haturkan kepada:

1. Kementerian Ristek Pendidikan dan Kebudayaan RI melalui Dirjen Dikti yang telah mengalokasikan dana penelitian ini.
2. Dr. Hartono, selaku Dekan FMIPA UNY yang telah memberikan kesempatan dan memfasilitasi waktu dan tempat untuk pelaksanaan penelitian ini.
3. Prof. Dr. Anik Ghufroon, selaku Ketua LPPM UNY dan jajarannya yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas penunjang penelitian.
4. Evy Yulianti, M.Sc yang telah berpartner dalam pelaksanaan penelitian ini
5. Mahasiswa Ulil, Icha, Ratna dan Mbak Endang yang telah *mensupport* penelitian ini.
6. Bapak/Ibu pembahas yang telah memberi masukan dalam penelitian ini
7. Semua rekan sejawat dosen Biologi dan laboran.
8. *My husband*, Waskito Agung Nugroho dan *my lovely kids* Nashwa Maheswari Wannawijaya dan Masterino Wisam Wannawijaya ....*thanks for everything*

Laporan ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu kritik dan saran pembaca sangat kami harapkan. Semoga bermanfaat

Yogyakarta, Oktober 2015

Penyusun

## **DAFTAR ISI**

HALAMAN SAMPUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI .....	vi
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN .....	ix
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN .....	13
BAB IV. METODE PENELITIAN .....	14
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	17
BAB VI. RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA .....	32
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN .....	33
DAFTAR PUSTAKA .....	34
LAMPIRAN .....	37

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi Cu terserap .....	18
Tabel 2. Rerata konsentrasi Cu dan persentase penyerapan Cu oleh isolat D2 dan D95 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi 48 jam .....	19
Tabel 3. Konsentrasi Pb terserap pada medium dengan perlakuan variasi jenis isolat, konsentrasi awal Pb dan variasi waktu kontak .....	21
Tabel 4. Rerata konsentrasi Pb dan persentase penyerapan Pb oleh isolat D2 dan D19 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi .....	22
Tabel 5. Konsentrasi Cd terserap pada medium dengan perlakuan variasi jenis isolat, konsentrasi awal Cd dan variasi waktu kontak .....	25
Tabel 6. Rerata konsentrasi dan persentase penyerapan Cd oleh isolat D2 dan D19 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi 48 jam .....	26

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Kerangka berfikir penelitian .....	3
Gambar 2. Beberapa cara detoksifikasi yang dilakukan oleh mikroorganisme terhadap ion-ion logam.....	10
Gambar 3. Struktur EPS dalam Lumpur Aktif .....	11
Gambar 4. <i>Roadmap</i> penelitian .....	14
Gambar 5. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D2 pada media NB+Cu .....	17
Gambar 6. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D95 pada media NB+Cu .....	17
Gambar 7. Rerata konsentrasi Cu pada jenis isolat (D2,D95); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C .....	19
Gambar 8. Rerata persentase penyerapan Cu oleh isolat D2 dan D95; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C .....	20
Gambar 9. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D2 pada media NB+Pb .....	21
Gambar 10. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D19 pada media NB+Pb .....	21
Gambar 11. Rerata konsentrasi Pb pada jenis isolat (D2,D19); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C .....	22
Gambar 12. Rerata persentase penyerapan Pb oleh isolat D2 dan D19; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C .....	23
Gambar 13. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D2 dan D92 pada media NB.....	24
Gambar 14. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D2 pada media NB+Cd .....	24
Gambar 15. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D92 pada media NB+Cd .....	24
Gambar 16. Rerata konsentrasi Cd pada jenis isolat (D2,D92); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C .....	26
Gambar 17. Rerata persentase penyerapan Cd oleh isolat D2 dan D92; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C .....	27



## **DAFTAR LAMPIRAN**

- Lampiran 1. Surat perjanjian internal pelaksanaan penelitian
- Lampiran 2. Berita acara seminar proposal dan seminar hasil penelitian
- Lampiran 3. Pengukuran logam berat
- Lampiran 4. SK TAS mahasiswa yang tergabung dalam penelitian
- Lampiran 5. Dokumentasi penelitian

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **Latar belakang masalah**

Bahaya akibat kontaminasi logam berat di lingkungan merupakan isu menonjol dalam beberapa tahun terakhir. Keberadaan zat-zat pencemar yang berlebihan dapat menyebabkan berubahnya keseimbangan ekosistem. Salah satu kasus pencemaran yaitu pencemaran Sungai Wai Apo yang mengairi 5.702 hektar sawah di Kecamatan Wai Apo Kabupaten Buru Maluku tercemar merkuri yang digunakan petambang emas ilegal. Lokasi yang tercemar sekitar 30 km dari titik awal pembuangan limbah merkuri (Kompas, 5 Februari 2015). Proses pemurnian logam menghasilkan jutaan ton material yang tercemar oleh radionuklida seperti uranium dan logam berat seperti Cd, Ni, dan Pb (Merron, 2007). Air laut yang tercemar air raksa limbah industri (kasus Minamata dan Buyat), udara yang tercemar timbal (Pb), air minum yang mengandung tembaga (Cu) (Slamet, 2003). Jenis kegiatan industri seperti industri logam, industri kimia, tekstil, pembuatan keramik, pembuatan baterai Ni-Cd, PVC, plastik, dan reaktor atom merupakan sumber pencemaran logam berat kadmium (Darmono, 2001). Kadmium (Cd), timbal (Pb), dan merkuri (Hg) sebagai *the big three heavy metal* yang memiliki tingkat bahaya tertinggi pada manusia (Suhendrayatna, 2001).

Pencemaran lingkungan oleh limbah logam berat umumnya diatasi dengan pengolahan limbah secara fisiko-kimia, namun menurut Hancock (1996) metode bioremediasi telah direkomendasikan sebagai teknik efektif karena mampu melakukan *recovery* logam yang spesifik dan mudah diperlakukan dalam limbah dengan volume yang besar, serta biaya operasionalnya murah dalam menyelesaikan masalah logam berat dan radionuklida pada limbah cair (Gomes *et al.*, 1998: 85-92). Suatu metode alternatif untuk mereduksi logam berat ataupun radioaktif di lingkungan telah dikembangkan dengan proses adsorpsi dan pertukaran ion. Adsorpsi merupakan salah satu cara penyisihan paling banyak digunakan karena metode ini aman, tidak memberikan efek samping membahayakan kesehatan, tidak memerlukan peralatan rumit dan mahal, mudah pengerjaannya dan dapat didaur ulang. Berbagai adsorben yang banyak digunakan di antaranya adalah karbon aktif, zeolit, dan lempung serta batu cadas. Namun, bahan-bahan tersebut relatif sulit

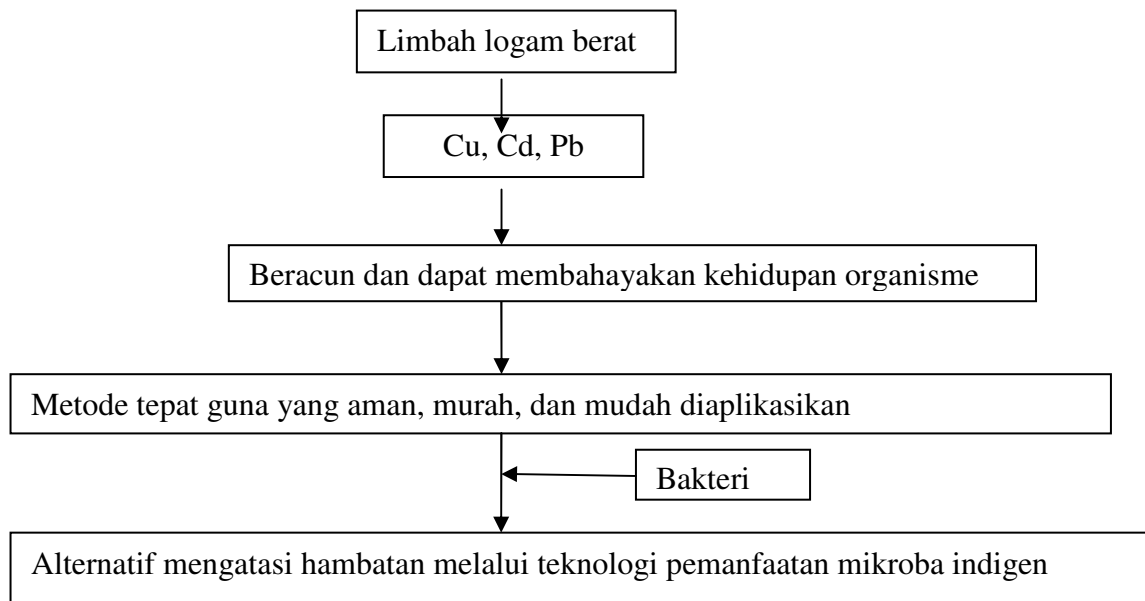
diperoleh dan mempunyai harga cukup mahal. Oleh karena itu, perlu dicari material baru yang lebih murah, mudah didapat serta mempunyai daya adsorpsi tinggi (Wesley, 1989)

Salah satu metode yang dapat diaplikasikan adalah bioremediasi menggunakan bakteri. Kelebihan metode tersebut yaitu penggunaan biomassa yang murah dan dapat didaur ulang, kapasitas tinggi dalam pengikatan logam, selektif dalam pengikatan logam kontaminan. Bakteri mempunyai beberapa tipe mekanisme toleran dalam pengambilan ion-ion logam berat agar dapat mempertahankan hidup dibawah kondisi stres. Mekanisme ini meliputi : efflux ion logam pada bagian luar sel, akumulasi dan kompleks ion logam pada bagian dalam sel, dan reduksi ion logam untuk menurunkan efek toksik. Henggar, Teddy, dan Susi (2011: 35) menyatakan keberhasilan bioremediasi yaitu mengubah logam aktif dalam tanah terkontaminasi menjadi tidak aktif oleh aktivitas mikroba.

Eksplorasi potensi bakteri indigen Indonesia perlu terus dilakukan. Penelitian Maya, Enny, dan Maharani (2010) menemukan bakteri tahan merkuri dari Kali Mas Surabaya yang berpotensi sebagai agen bioremediasi merkuri. Erupsi Merapi mengandung bakteri termofilik yang belum diuji kemampuannya dalam mendegradasi limbah logam berat. Oleh karena itu, penelitian berjudul bioprospeksi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi untuk bioremediasi limbah logam berat perlu dilakukan.

### **Sistematika penelitian**

Penelitian direncanakan dilaksanakan selama 1 tahun. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan dari isolasi dan karakterisasi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi Hasil penelitian terdahulu telah diperoleh isolat-isolat bakteri termofilik. Dalam penelitian ini akan dilakukan percobaan bioremediasi limbah logam berat Cu, Pb, dan Cd dengan mengaplikasikan beberapa isolat yang telah diperoleh tersebut kemudian diuji kemampuannya dalam bioremediasi Cu, Pb, dan Cd secara *in vitro*.



Gambar 1. Kerangka berfikir penelitian

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA**

**State of the art** untuk mendapatkan bakteri termofilik pasca erupsi Merapi telah kami lakukan pada penelitian pusat studi UNY tahun 2011 dan telah diurnalkan tahun 2012 oleh Anna R. dan Evy Y. Penelitian yang dilakukan yaitu isolasi, karakterisasi dan memperoleh isolat bakteri termofilik yang mampu menghasilkan enzim ekstraseluler. Isolasi bakteri termofilik dilakukan dengan menggunakan 2 (dua) metode yaitu *dilution* dan *enrichment* dengan media *Nutrient Broth* kemudian diinkubasi pada 55 °C, selanjutnya yaitu seleksi pada suhu 70 °C. Karakterisasi yang dilakukan meliputi karakterisasi morfologi koloni. Setelah itu dilakukan skrining aktivitas enzim amilase, protease, dan selulase. Hasil penelitian menunjukkan bakteri termofilik pasca erupsi Merapi yang diisolasi dari sampel air dan pasir Kali Gendol Atas dengan suhu inkubasi 55 °C diperoleh 480 isolat, setelah diseleksi pada suhu 70 °C diperoleh 253 isolat. Karakter fenotipik isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi menunjukkan keanekaragaman morfologi koloni meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi, dan elevasi koloni. Isolat bakteri termofilik yang menghasilkan enzim ekstraseluler amilase sebanyak 9 isolat, enzim protease sebanyak 4 isolat, dan 1 isolat penghasil enzim selulase pada suhu inkubasi 70 °C .

**Penelitian pendahuluan** yang telah dilakukan antara lain pada penelitian Hibah Bersaing tahun 2013 oleh Anna R, Evy Y, dan Eli R. Penelitian ini bertujuan melakukan optimasi produksi enzim ekstraseluler termostabil dan karakterisasi enzim ketika pada suhu dan pH berbeda. Bakteri termofilik yang diseleksi sebanyak 348 isolat yang telah diisolasi dari Kali Gendol Atas pasca erupsi Merapi. Media yang digunakan untuk skrining enzim amilase yaitu Starch Agar, enzim protease menggunakan media Skim Milk Agar, sedangkan enzim selulase dengan media Mandels-CMC. Inkubasi dilakukan pada suhu 55 °C selama 24 jam. Pemilihan isolat yang berpotensi sebagai penghasil enzim amilase dan protease berdasarkan indeks amilolitik dan proteolitik tertinggi. Sedangkan bakteri selulolitik berdasarkan diameter koloni. Hasil penelitian menunjukkan 57 isolat bakteri menghasilkan enzim

amilase dan protease, 15 isolat hanya menghasilkan enzim amilase, dan 35 isolat hanya menghasilkan enzim protease. Isolat yang mampu tumbuh pada medium Mandels-CMC sebanyak 255 isolat. Produksi enzim amilase tertinggi oleh isolat bakteri D92 pada media Starch Broth setelah *dishaker* selama inkubasi 16 jam. Aktivitas enzim amilasanya paling optimum pada suhu 65 °C dengan pH 7. Produksi enzim protease tertinggi oleh isolat D104a pada medium Skim Milk Broth dengan inkubasi 21 jam kondisi statik. Aktivitas enzim proteasanya paling optimum suhu 65 °C dengan pH 9. Isolat D13a menghasilkan enzim selulase tertinggi pada medium Mandels-CMC Broth *dishaker* dan diinkubasi selama 33 jam. Aktivitas enzim selulasenya paling optimum pada suhu 65 °C dengan pH 7.

Penelitian pendahuluan telah dilakukan tahun 2014 dengan melakukan seleksi kemampuan hidup isolat bakteri pada media yang mengandung logam berat yaitu Cu, Pb, dan Cd dengan suhu inkubasi 60 °C

### **Interaksi Logam Dengan Mikroorganisme**

Logam berperan di dalam proses-proses hidup mikroba dalam metabolisme mikroorganisme yang berupa respirasi, motilitas, dan siklus biokimiawi C, N, S, P serta fiksasi nitrogen dan sintesis enzim. Beberapa logam seperti Cr, Ca, Mg, Mn Cu, Na, Ni dan Zn penting sebagai mikronutrien pada berbagai aktifitas metabolisme dan proses redoks. Namun ada beberapa logam yang tidak mempunyai peranan biologi, seperti : Ag, Cd, Au, Sn, Pb, dan Hg dan U karena bukan merupakan hara esensial (nonesensial), tetapi racun (toksik) bagi mikroorganisme. Toksisitas logam terjadi dengan terlepasnya logam esensial dari situs pengikatan aktifnya atau lewat interaksi ligan. Kebanyakan ion logam yang masuk ke sel mikroorganisme memiliki efek racun fisiologis. Toksisitas ion logam dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu interaksi antara logam dan organisme. Banyak kation logam divalent seperti  $Mn^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  sangat sama dalam hal strukturnya. Selain itu, struktur oxyanions, seperti kromat, menyerupai sulfat. Jadi, untuk mampu membedakan antara ion logam yang mirip, sistem pengambilan mikroorganisme harus diatur ketat. Biasanya mikroorganisme mengatasi masalah ini dengan menggunakan dua jenis sistem pengambilan ion logam. Cara pertama terjadi secara cepat, nonspesifik dan dikendalikan oleh gradient khemiosmotik melewati membran sitoplasma

mikroorganisme (Nies,1999: 730-750). Jenis sistem pengambilan kedua memiliki tingkat spesifik substrat rendah dan sering menggunakan hidrolisis ATP sebagai sumber energi dan hanya dihasilkan oleh sel ketika dibutuhkan (Nies dan Silver, 1995: 186-199). Meski ada sistem pengambilan spesifik, logam nonesensial dalam konsentrasi tinggi mungkin ditransport ke dalam sel dengan sistem nonspesifik (K. Ramasamy *et al.*, 2010: 173-175)

Proses mikrobiologis untuk penghilangan atau pemindahan logam-logam dari larutan dibagi kedalam 3 kategori, yaitu : (1). Adsorpsi ion logam di atas permukaan dari mikroorganisme; (2). Ketersediaan intraselular dari logam; (3). Transformasi kimia dari logam oleh agent biologi. Sebagian besar mikroorganisme mempunyai suatu muatan elektrik negatif pada kelompok bermuatan negatif dari atom pada membran sel dan dinding sel. Kelompok bermuatan atau ligan termasuk phosphoril ( $\text{PO}^{4-}$ ), carboksil ( $\text{COO}^-$ ), dan hidroksil ( $\text{OH}^-$ ) yang bertanggung jawab untuk adsorpsi ion-ion logam bermuatan positif dalam larutan. Proses adsorpsi berlangsung cepat tergantung pada temperatur dan metabolisme energi. Interaksi antara logam dan mikroorganisme dapat juga terganggu dengan kehadiran senyawa lain, seperti : mineral liat, anion inorganik, kation, dan kompleks bahan organik. Logam dapat terhidrasi, dijerat oleh senyawa tersebut, sehingga ketersediaan logam berkurang sebagai akibat interaksi dengan mikroorganisme.

### **Bioremediasi dan Mekanisme Detoksifikasi Mikroorganisme terhadap Logam.**

Remediasi adalah kegiatan untuk membersihkan suatu yang tercemar, terdapat dua jenis remediasi yaitu *in situ* dan *ex situ*. Bioremediasi tergolong dalam remediasi *in situ*. Bioremediasi adalah teknik aplikasi berdasarkan prinsip-prinsip proses biologis untuk membersihkan atau mengurangi senyawa-senyawa polutan berbahaya di dalam tanah, air tanah dan perairan; penyisihan atau pengurangan cemaran atau polutan senyawa “target yang berbahaya” melalui aktivitas enzimatis organisme yang mampu menggunakan atau mentransformasikan senyawa polutan sebagai sumber energi dan karbonnya. Organisme atau agen biologis yang berperan antara lain bakteri, aktinomycetes, yeast, fungi (kapang), alga dan tumbuhan (Rizani A, Zakkhroful M, Rini W, 2010: 12). Crowford dan Don (1998: 312-332) menyatakan bahwa bioremediasi mengarah pada penggunaan secara produktif proses biodegradasi untuk mengurangi bahan beracun yang terdapat didalam air, tanah dan

sedimen. Bioremediasi merupakan bagian teknologi lingkungan yang menggunakan organisme hidup untuk mengurangi atau mengeliminasi ancaman terhadap lingkungan yang berasal dari unsur kimia toksik dan limbah berbahaya lainnya. Bioteknologi lingkungan sendiri berarti suatu teknik penggunaan sejumlah mikroba untuk meningkatkan kualitas lingkungan. Teknik bioremediasi didasarkan pada kemampuan organism hidup untuk mengubah senyawa organik dan anorganik. Pengolahan limbah secara biologis ini bersaing dengan pengolahan limbah secara fisikawi dan kimiawi. Pengolahan limbah secara kimiawi dan fisikawi tersebut memang memiliki kelebihan dibandingkan dengan pengolahan secara biologis karena dapat untuk mengolah limbah dengan konsentrasi radionuklida yang besar, dan tidak membutuhkan adanya penambahan nutrisi (Gazso, 2001: 179). Namun

menurut McEldowney *et al.*, (1993) dalam Kusnanto (2005: 17), bioremediasi memiliki kelebihan dalam hal; penggunaan biomassa yang murah, kapasitasnya yang tinggi dalam pengikatan logam, selektif dalam pengikatan logam kontaminan, dan penggunaan biomassa yang dapat didaur ulang.

Penambahan logam berat pada suatu ekosistem dalam jumlah dan konsentrasi tinggi dapat menyebabkan mikroorganisme (fungi) tertekan/ stres. Pada konsentrasi tinggi, ion logam berat akan bereaksi membentuk senyawa toksik di dalam sel mikroorganisme (Spain, 2003: 1-6). Bakteri mempunyai beberapa tipe mekanisme toleran dalam pengambilan ion-ion logam berat agar dapat mempertahankan hidup dibawah kondisi stres. Mekanisme ini meliputi : efflux ion logam pada bagian luar sel, akumulasi dan kompleks ion logam pada bagian dalam sel, dan reduksi ion logam untuk menurunkan efek toksik. Mikroorganisme mempunyai kemampuan beradaptasi dan toleran logam sehingga mikroorganisme dapat membersihkan lingkungan terkontaminasi logam. Peranan mikroorganisme dalam mempengaruhi proses mobilisasi atau immobilisasi unsur-unsur toksik adalah melalui beberapa mekanisme berikut : (1). Kelat unsur oleh proses metabolisme; (2). Oksidasi reduksi logam yang dipengaruhi daya larut atau valensi; (3). Perubahan pH yang mempengaruhi sifat ion, biosorpsi oleh kelompok fungsional pada permukaan sel; (4). Bioakumulasi oleh sistem transport energi; (5). Immobilisasi untuk membentuk



bahan stabil, biometilasi, dan biodegradasi kompleks organik pada logam (Sartji T, 2004: 14)

#### Mobilisasi

Mobilisasi atau pelarutan terhadap logam-logam toksik yaitu melalui reaksi oksidasi-reduksi dan produksi metabolisme asam organik atau mineral yang dipengaruhi oleh naik turunnya pH dalam larutan.

#### Siderapore

Siderapore atau penjerap Fe spesifik dihasilkan ketika mikroorganisme tumbuh dalam medium yang kekurangan Fe. Siderapore memegang peranan penting dalam mengkompleks logam-logam toksik dan meningkatkan daya larutnya (Gazso, 2001: 184-185). Siderapore lebih spesifik untuk Fe (III), tetapi dapat juga mengkompleks logam-logam berat lainnya.

#### Immobilisasi

Immobilisasi pada logam-logam berat ditunjukkan dengan terbentuknya pengendapan (presipitasi), biosorpsi, dan bioakumulasi.

##### a) Pengendapan (presipitasi)

Presipitasi merupakan pengambilan ion logam secara ekstraseluler dimana terjadi pengubahan ion logam bersifat larut menjadi ion logam yang tidak larut dengan bantuan senyawa hasil metabolisme. Degradasi mikroorganisme dari senyawa organo-fosfat hingga orthofosfat dapat menyebabkan pengendapan logam melalui pembentukan logamfosfat, khususnya pada  $pH > 7$ , termasuk fosfat intraselular yang menyebabkan *immobilisasi* logam-logam.

##### b) Biosorpsi

Biosorpsi merupakan proses penyerapan logam, senyawa, dan partikulat dari larutan dengan proses tidak tergantung pada metabolisme (tanpa memerlukan energi), terutama terjadi pada permukaan dinding sel. Penyerapan oleh mikroorganisme dibagi menjadi dua, yaitu :

- 1) Penyerapan tidak bergantung pada metabolisme yang terjadi pada permukaan sel.
- 2) Penyerapan melibatkan proses metabolisme terjadi pada sel-sel hidup, proses ini berlangsung lambat dan banyak bergantung pada nutrisi dan kondisi lingkungan seperti pH larutan dan suhu. Pada sel-sel mati, penyerapan tidak bergantung pada

metabolisme. Proses ini terjadi ketika ion mengikat dinding sel dengan 2 cara yang berbeda, yaitu :

- a. Pertukaran ion monovalen dan divalen seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel diganti oleh ion-ion logam berat.
- b. Formasi antara ion-ion logam berat dengan gugus fungsional seperti karbonil, amino, hidroksi, fosfat, dan hidroksi-karbonil yang berada pada dinding sel

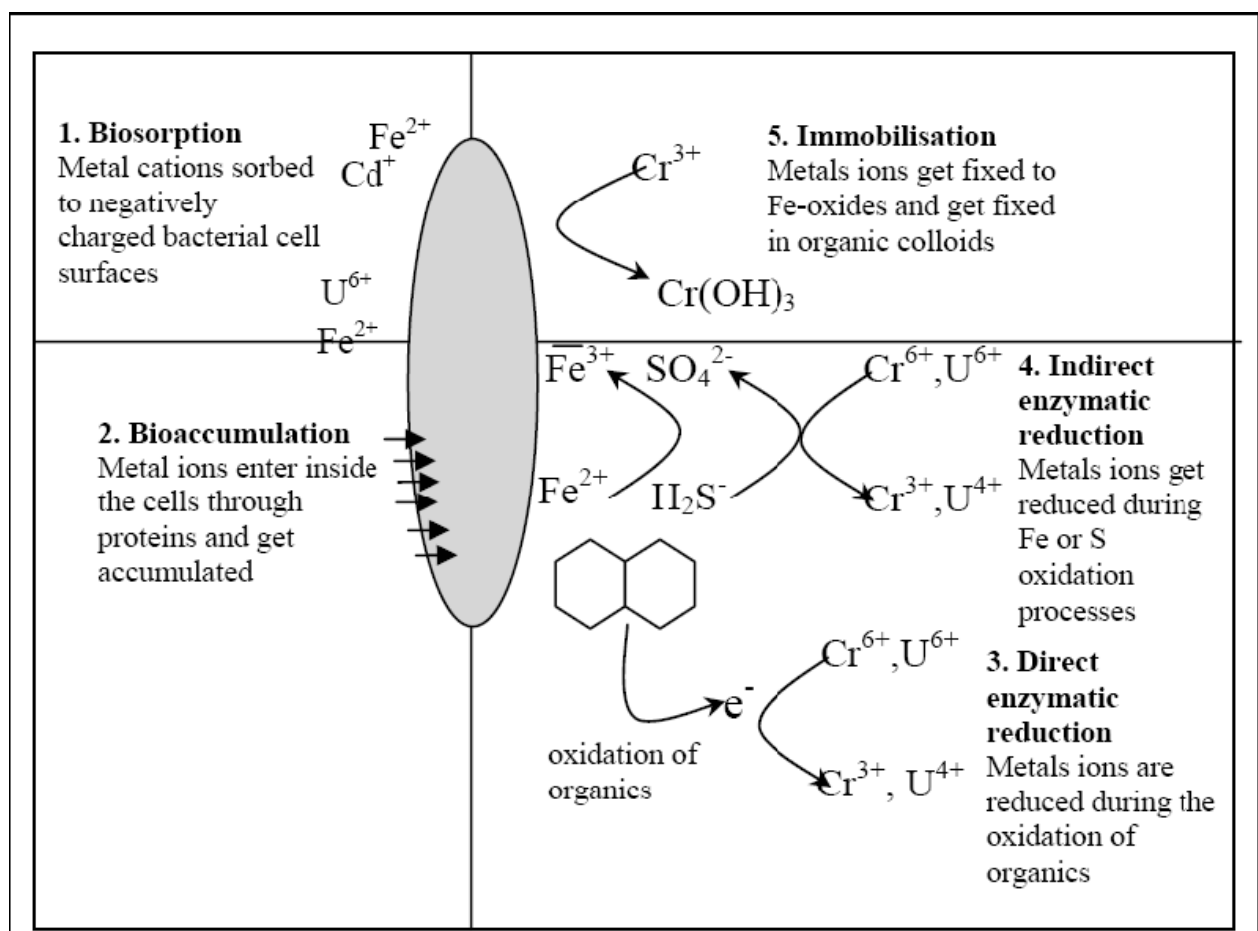
Biosorpsi logam toksik didasarkan pada proses nonenzimatik seperti adsorpsi. Adsorpsi adalah pengikatan nonspesifik dari spesies ionik pada permukaan sel, atau polisakarida

dan protein ekstraselular. Dinding sel bakteri dan lapisannya, dinding fungi, dan alga efisien sebagai biosorben logam (kelompok pengikat bermuatan). Ion-ion logam dapat dipindahkan melalui biomassa bakteri hidup atau mati. Banyak fungi mempunyai kandungan kitin tinggi pada dinding sel dan polimer ini dari N-asetilglukosamin yang merupakan biosorbent efektif. Banyak faktor berpengaruh terhadap proses biosorpsi, tetapi ada faktor yang sangat mempengaruhi proses biosorpsi menurut Ahalya *et al.*, (2003: 7), yaitu pH dan waktu kontak. Parameter yang sangat penting dalam proses biosorpsi adalah pH, hal itu berpengaruh terhadap kelarutan kimia dari logam, aktivitas kelompok-kelompok fungsional di dalam biomassa dan kompetisi di antara ion-ion logam. Waktu kontak juga merupakan variabel yang sangat berpengaruh (Suhendrayatna, 2001: 5-8)

#### c) Bioakumulasi

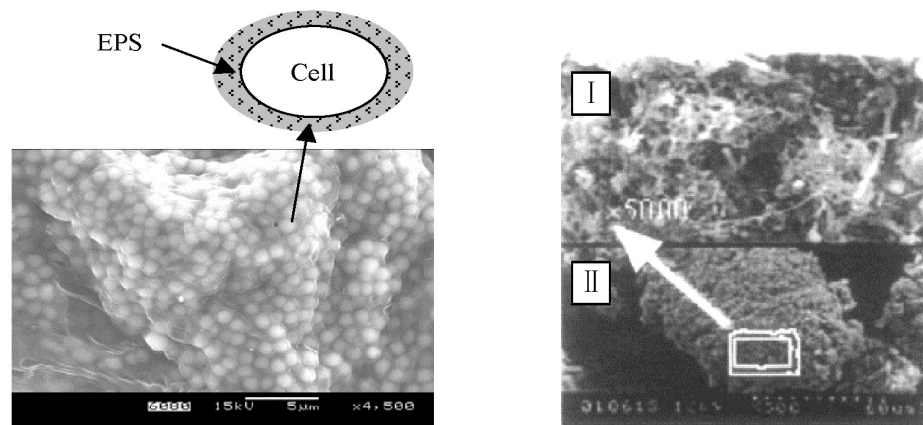
Bioakumulasi merupakan proses pengambilan kation logam secara aktif (menggunakan energi) yaitu secara transport aktif dan ikatan permukaan (Alexander, 1999 dalam Alisahdani : 2004). Salah satu faktor yang mempengaruhi bioakumulasi oleh mikroorganisme adalah pH. Penelitian yang dilakukan oleh Suh, *et al* (1999: 471-474), “Pengaruh pH terhadap akumulasi  $Pb^{2+}$  dari limbah industri oleh mikroorganisme”, menunjukkan bahwa pH optimum akumulasi  $Pb^{2+}$  pada *Saccharomyces cerevisiae* adalah pH 4-5, sedangkan *Aureobasidium pullulans* pada pH 6-7. Proses akumulasi kedua mikroorganisme tersebut jelas berbeda, karena pada *S. cerevisiae*, ion  $Pb^{2+}$  dapat menembus ke dalam bagian sel inner, sedangkan pada *A. pullulans* akumulasi hanya terjadi pada bahan polimerik ekstraselular di sekitar permukaan sel. Ledin dan Pedersen (1996: 68) juga menegaskan pentingnya peranan

mikroorganisme di lingkungan terkontaminasi (limbah) dengan konsentrasi logam berat tinggi. Prinsip kerja mikroorganisme dapat mempengaruhi *mobilisasi* atau *immobilisasi* logam. Kehadiran mikroorganisme dapat mempengaruhi penyebaran logam dengan cara berbeda. Kehidupan mikroorganisme bebas merupakan partikel *mobile* yang memiliki kemampuan tertinggi dalam menjerap logam. Bila mayoritas dari mikroorganisme membentuk biofilm pada permukaan, maka pergerakan logam menjadi berkurang, karena beberapa mikroorganisme dapat menyebabkan logam-logam mengendap, seperti sulfida. Aktivitas mikroorganisme dalam siklus karbon juga berpengaruh terhadap jumlah dan karakter bahan organik. Senyawa organik memiliki variasi ukuran dalam menjerap logam. Ukuran senyawa organik seperti sifat lainnya juga menentukan bila kompleks logamorganik dalam bentuk *mobile* atau *immobile* di lingkungan. Degradasi oleh mikroorganisme dapat merubah senyawa logam organik dalam bentuk *immobile* menjadi *mobile* dan menyebabkan logam larut dalam air (Sartji Taberima, 2004: 13-19)



Gambar 2. Beberapa cara detoksifikasi yang dilakukan oleh mikroorganisme terhadap ion-ion logam (K. Ramasamy *et al.*, 2010: 177)

Lumpur aktif hasil pengolahan limbah secara biooksidasi dengan bakteri aerob mengandung jutaan koloni bakteri hidup dan mati. EPS dapat diekstraksi dari lumpur aktif tersebut melalui metode sentrifugasi. Lumpur aktif disaring untuk memisahkan cairannya sehingga diperoleh *cake*. *Cake* kemudian diresuspensi dengan menggunakan akuades, kemudian dipanasi selama beberapa menit. Larutan tersebut kemudian disentrifugasi pada rpm yang tinggi (9000 rpm) dan suhu yang rendah (4 °C) untuk pemisahan beningan dan partikel padatnya. Beningan tersebut merupakan EPS yang mempunyai kemampuan biosorpsi logam berat dan unsur radioaktif dalam limbah. EPS dapat digunakan secara langsung dalam proses biosorpsi logam berat dan atau radionuklida melalui proses EPS terdispersi dalam limbah cair. *Extracellular Polymeric Substances* dihasilkan dari sel bakteri hidup dan mati termasuk hasil ekskresi atau yang dikeluarkan sel bakteri, pembelahan sel dan senyawa organik dalam tubuh bakteri. EPS tersusun dari campuran polisakarida, mukopolisakarida dan protein dengan komposisi Polisakarida (40-95 % total EPS), protein (1-60%), asam nukleat (1-10%), lipid (1-10%) dan sisanya polimer yang terdiri atas asam amino dan senyawa lain (Yu Tin, 2008)



Gambar 3. Struktur EPS dalam Lumpur Aktif (Yu Tin, 2008)

### **Roadmap penelitian**

Penelitian mengenai eksplorasi mikroorganisme termofilik sudah kami inisiasi dari penelitian eksplorasi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi sebagai penghasil enzim ekstraseluler (Anna R dan Evy Y, 2012), serta isolasi dan uji aktivitas enzim amilase termostabil dari bakteri termofilik pasca erupsi Merapi (Evy Y dan Anna R, 2013). Hasil penelitian menunjukkan bakteri termofilik pasca erupsi Merapi 2010 berpotensi sebagai penghasil enzim ekstraseluler termostabil. Penelitian tersebut baru sebatas data kualitatif enzim yang dihasilkan. Oleh karena itu, eksplorasi bakteri termofilik yang berpotensi perlu terus dikembangkan agar dapat diterapkan ke masyarakat.

Penelitian selanjutnya kami lakukan pada tahun 2013 (Anna R, Evy Y, dan Eli R) melakukan skrining produksi enzim ekstraseluler termostabil dan pengaruh faktor lingkungan (suhu dan pH) terhadap aktivitas enzim ekstraseluler termostabil. Bakteri berpotensi telah ditemukan namun karakter molekulernya untuk menentukan nama spesiesnya belum dilakukan. Faktor lain yang mempengaruhi produksi enzim belum diteliti misal substrat dan keberadaan ion belum diketahui.

Penelitian pendahuluan telah dilakukan tahun 2014 dengan melakukan seleksi kemampuan hidup isolat bakteri pada media yang mengandung logam berat yaitu Cu, Pb, dan Cd dengan suhu inkubasi 55 °C namun belum dilakukan pada variasi konsentrasi, pH, dan suhu juga belum dilakukan. Setelah diperoleh tahap optimasi masing-masing isolat terpilih selanjutnya ditentukan strategi bioremediasi yang paling tepat untuk masing-masing isolat.

### **BAB III**

### **TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN**

#### **Tujuan penelitian**

1. Uji resistensi isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi terhadap logam berat (Cu, Pb, dan Cd).
2. Optimasi bioremediasi pada masing-masing isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi terpilih pada media yang mengandung logam berat (Cu, Pb, dan Cd).

#### **Manfaat Penelitian**

1. Hasil penelitian diharapkan mampu memberikan sumbangan informasi dalam bidang biodiversitas mikroba Indonesia serta membuka peluang bagi eksplorasi bioremediator logam berat yang lainnya.
2. Kegiatan penelitian kolaboratif juga diharapkan ialah meningkatnya percepatan riset nasional yang tinggi untuk memacu kegiatan penelitian ilmu-ilmu dasar dan lebih lanjut kepada arah produksi enzim berskala industri.
3. Hasil yang ditargetkan dalam bentuk publikasi ilmiah maupun teknologi tepat guna. Teknologi yang dihasilkan tepat guna, sederhana, murah, mudah diperoleh, dan aplikatif dari bakteri termofilik yang diisolasi pasca erupsi Merapi 2010 yang berpotensi untuk bioremediasi limbah logam berat.
4. Pihak industri dapat memanfaatkan bakteri termofilik untuk pengolahan limbah logam berat.

Isolasi mikroorganisme  
pasca erupsi Merapi:

1. Anna R & Evy Y (2012)  
mengisolasi bakteri  
termofilik pasca erupsi  
Merapi sebagai penghasil  
enzim ekstraseluler
2. Evy Y & Anna R (2013)  
isolasi dan uji aktivitas  
enzim amilase termostabil  
dari bakteri termofilik  
pasca erupsi Merapi
3. Anna R, Evy Y, & Eli R  
(2013) pengembangan  
bakteri termofil pasca  
erupsi Merapi sebagai

1. Seleksi pertumbuhan  
isolat bakteri pada  
berbagai konsentrasi  
logam berat (Cu, Pb, Cd)  
dan suhu berbeda (45, 55,  
dan 65 °C) serta pH  
berbeda (6,7,dan 8).
2. Tahap optimasi  
bioremediasi pada  
masing-masing isolat  
terpilih

- A. Sosialisasi pemanfaatan  
bakteri termofilik sebagai  
agen bioremediasi di  
lingkungan industri dan  
masyarakat luas
- B. Pengembangan bakteri  
termostabil dalam bentuk  
kemasan siap pakai

#### **BAB IV**

#### **METODE PENELITIAN**

##### **Desain penelitian**

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksploratif dan eksperimental  
Gambar 4 menunjukkan bagan alir roadmap penelitian yang menggambarkan  
apa yang sudah dilaksanakan dan apa yang akan dikerjakan dalam penelitian ini.

Penelitian yang telah dilakukan → Rencana penelitian → Rencana lanjut arah penelitian

Gambar 4. *Roadmap* penelitian

### **Tempat penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Pendidikan Biologi, FMIPA UNY dimulai bulan Februari 2015. Analisis logam menggunakan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS) dilakukan di Laboratorium Analisis Instrumentasi, Pusat Pendidikan dan Pelatihan Industri, SMK SMTI Yogyakarta dan Laboratorium Kimia Analitik Jurusan Kimia FMIPA UGM.

### **Alat dan bahan**

#### **Alat**

Peralatan yang digunakan antara lain AAS (*Agilent Technologies 200 series AA*), autoklaf (*ALL AMERICAN Model No.25X*), botol krim, botol kultur, cawan petri (*Pyrex*), *Colony Counter* (*SIBATA Model-CL560*), drigalsky, erlenmeyer (*Pyrex*), gelas beaker (*Pyrex*), gelas ukur (*Pyrex*), *Hot plate* (*EYELA Magnetic Stirrer RCH-3*), inkubator (*EYELA Soft Incubator SLI-600N*), jarum ose, kain kasa, kapas, kertas saring Whattman 42, kertas tissue, kuvet, *Laminar air flow* (*SCB-1000A*), mikropipet (*SOCOREX ACURA 825*), mikroskop (*Nikon*), oven (*UCHIDA IST-150D*), pH meter (*UCHIDA KT-1A*), pipet tetes, rak tabung, sentrifuge (*KOKUSAN H-103N*), spektrofotometer (*Spectronic<sup>®</sup> 20 Genesys<sup>TM</sup>*), tabung reaksi (*Pyrex*), timbangan analitik (*AND HR-250A*), tip pipet mikro steril, vortex (*SIBATA TTM-1*), *water bath* (*EYELA Uni Thermo Shaker NTS-1300*).

#### **Bahan**

Isolat bakteri terseleksi; akuades; alkohol 70%, aluminium foil, media pertumbuhan isolat yaitu Nutrient Agar (Oxoid) dan Nutrient Broth (Oxoid),  $3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ;



$\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (Merck)., lampu spiritus, kertas payung, kapas, karet, plastik tahan panas.

### **Prosedur penelitian**

Penelitian diawali dengan melakukan peremajaan isolat-isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi 2010 sehingga dapat diperoleh isolat dengan umur 24-48 jam dengan suhu inkubasi  $55^\circ\text{C}$ . Tahap selanjutnya yaitu skrining isolat bakteri berdasarkan kemampuan hidup dan tumbuh pada media mengandung logam kadmium (Cd); timbal (Pb), dan tembaga (Cu).

Seleksi dilakukan menggunakan metode *streak* pada media NA *plate* mengandung Cd, Pb, dan Cu dengan berbagai konsentrasi, kemudian diinkubasi pada suhu  $55^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Konsentrasi Cu, Pb, dan Cd maksimum yang dapat ditumbuhi bakteri digunakan sebagai dasar penentuan variasi konsentrasi pada tahap penelitian selanjutnya. Isolat yang mempunyai daya hidup paling baik dijadikan isolat terpilih untuk diuji kemampuan mereduksi logam Cd, Pb, dan Cu pada media pertumbuhan. Isolat terpilih untuk masing-masing logam berat selanjutnya diukur kurva pertumbuhan untuk menentukan fase pertumbuhannya. Pengukuran pertumbuhan berdasarkan nilai OD pada media NB. Setiap 3 jam sekali nilai *optical density* (OD) diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 540 nm. Pengukuran OD dimulai dari jam ke-0 sampai dengan jam ke-48

### **Uji Toleransi Mikroba Toleran Logam berat**

Variasi waktu inkubasi perlakuan pada logam berat ditentukan berdasarkan fase pertumbuhan bakteri melalui kurva pertumbuhan, yaitu 0 jam, fase eksponensial dan stasioner. Penentuan umur perlakuan dilakukan dengan kurva pertumbuhan pada media NB mengandung logam kadmium. Hal ini serupa dengan penentuan kurva pertumbuhan pada media cair (NB), yaitu dilakukan pengukuran *Optical density* (OD) setiap 3 jam sekali selama 48 jam. Media yang digunakan untuk menumbuhkan isolat bakteri adalah media *Nutrient Broth* mengandung Cu dengan konsentrasi 10,00 ppm; 20,00 ppm; dan 30,00 ppm. Pb dalam konsentrasi 6,09 ppm ;28,34 ppm; dan 51,5 ppm. Sedangkan Cd dalam konsentrasi 0,40 ppm; 0,70 ppm, dan 1,00 ppm. Penentuan pola kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri pada media cair (*Nutrient Broth*) mengandung logam berat.

### **Analisis Kadar Logam Sisa**

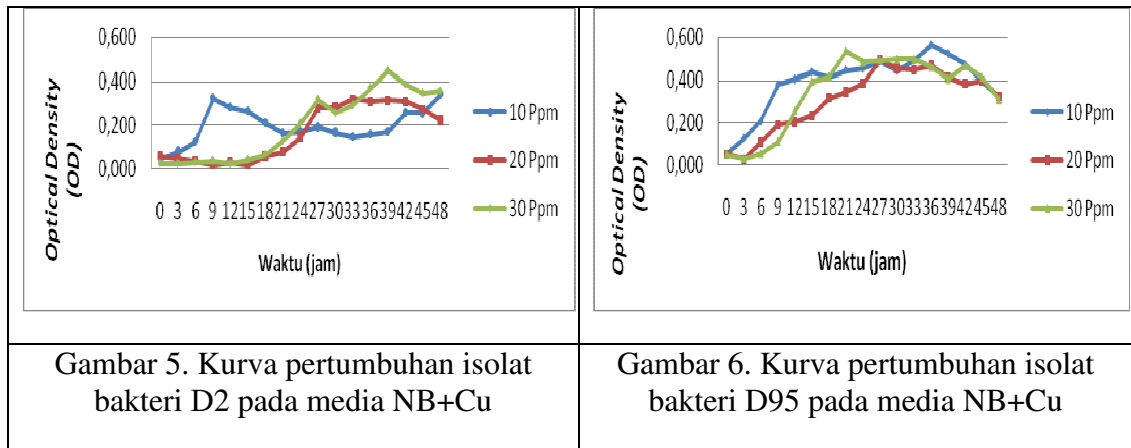
Serapan Cu, Pb, dan Cd yaitu dengan memperlakukan isolat terpilih dengan variasi konsentrasi dan lama waktu inkubasi yang ditetapkan. Supernatan yang tertinggal diukur kadar logam beratnya dengan menggunakan AAS. Sebagai kontrol positif, diukur pula kadar logam berat pada medium NB ditambah logam berat dengan perbandingan yang sama tetapi tidak diinokulasi dengan bakteri.

## **BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN**

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri termofilik yang diisolasi dari Sungai Gendol Atas pasca erupsi Merapi tahun 2010. Isolat yang dipilih merupakan bakteri dari sampel air dan pasir Sungai Gendol Atas diisolasi dengan metode *dilution* sebanyak 28 isolat. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan isolat dan konsentrasi ketahanan logam berbeda-beda.

### **Tembaga (Cu)**

Hasil skrining menunjukkan 18 isolat yang mampu hidup sampai konsentrasi 30 ppm, yaitu : D2, D3, D14, D16, D32, D55, D91, D92, D93, D94b, D95, D113, D132, D134, D135, D139, D140, D141. Ketika ditumbuhkan pada media cair, isolat bakteri termofilik hanya mampu bertahan hidup sampai konsentrasi 30 ppm, pada konsentrasi 50 ppm isolat D2 yang bertahan hidup. Maka konsentrasi logam berat Cu untuk perlakuan adalah 10, 20, dan 30 ppm. Isolat terpilih yaitu D2 dan D95



Tabel 1 menunjukkan isolat bakteri termofilik D95 mampu mereduksi Cu lebih tinggi daripada isolat D2.

Tabel 1. Hasil pengukuran konsentrasi Cu terserap

Lama Waktu Inkubasi	Konsentrasi Cu Awal (ppm)	Konsentrasi Cu Akhir (ppm)		Konsentrasi Cu Terserap		Rerata Konsentrasi Cu Terserap (%)	
		D2	D95	D2	D95	D2	D95
0 Jam	10 (10,41)	8,73	8,56	1,68	1,85	15,32	16,91
Eksponensial		8,90	8,74	1,51	1,67		
		9,07	8,52	1,34	1,89	14,41	24,40
		8,75	7,22	1,66	3,19		
Stasioner		9,67	6,90	0,74	3,51	4,61	29,39
		10,19	7,80	0,22	2,61		
0 Jam	20 (21,54)	19,15	15,93	2,39	5,61	10,56	24,16
Eksponensial		19,38	16,74	2,16	4,80		
		15,98	15,97	5,56	5,57	21,98	27,99
		17,63	15,05	3,91	6,49		
Stasioner		17,75	14,90	3,79	6,64	19,87	31,52

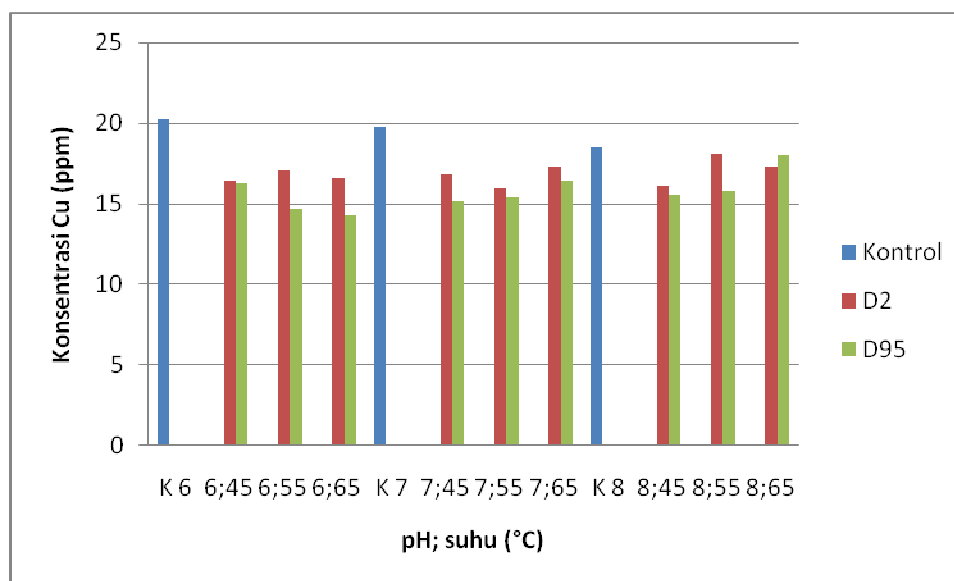
		16,77	14,60	4,77	6,94		
0 Jam	30 (31,04)	27,27	26,21	3,77	4,83	12,76	16,48
		26,89	25,64	4,15	5,40		
Eksponensial		26,89	21,09	4,15	9,95	15,63	33,62
		25,49	20,12	5,55	10,92		
Stasioner		27,59	23,10	3,45	7,94	11,65	27,03
		27,26	22,20	3,78	8,84		

Hasil penelitian menunjukkan masing-masing fase (waktu inkubasi) yang paling tinggi dalam menyerap logam Cu adalah pada saat fase stasioner. Sedangkan untuk konsentrasi awal yang mampu terserap paling baik adalah pada konsentrasi awal 20 ppm jika dibanding dengan konsentrasi lain. Oleh karena itu tahap optimasi reduksi Cu dilakukan pada kadar Cu 20 ppm fase stasioner 48 jam pada pH 6,7 dan 8 serta suhu 45, 55, dan 65 °C. Data lengkap ada di lampiran sedangkan Tabel 2 dan Gambar 7 memperlihatkan perbedaan hasil konsentrasi Cu yang diperoleh.

Tabel 2. Rerata konsentrasi Cu dan persentase penyerapan Cu oleh isolat D2 dan D95 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi 48 jam

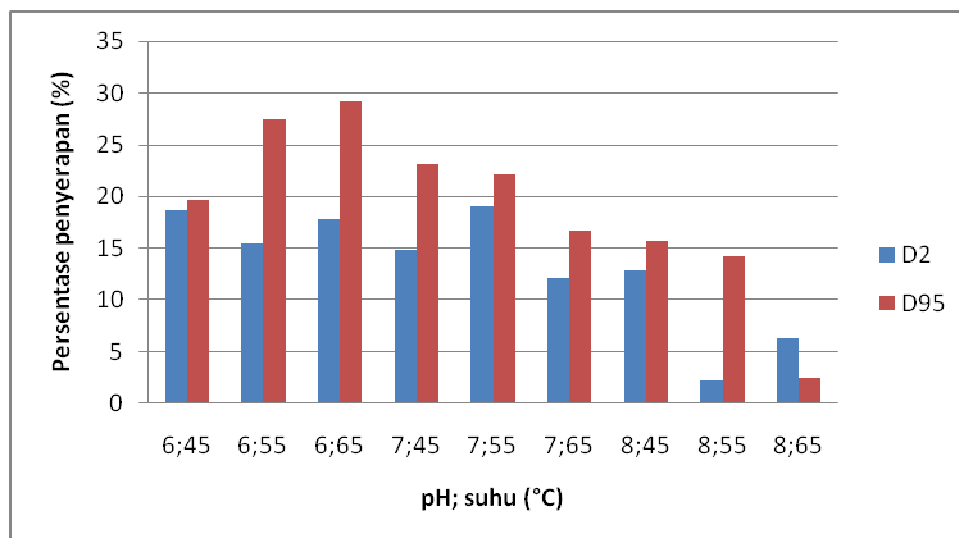
Isolat	pH	Suhu (°C)	Konsentrasi Cu (ppm)		Persentase Cu terserap (%)
			Sisa	Terserap	
D2	6	45	16,432	3,767	18,652
		55	17,082	3,118	15,435
		65	16,598	3,601	17,827
	7	45	16,798	2,934	14,87
		55	15,965	3,768	19,094
		65	17,332	2,401	12,168
	8	45	16,098	2,3677	12,822
		55	18,066	0,4005	2,1689
		65	17,299	1,1673	6,3215
D95	6	45	16,232	3,968	19,643
		55	14,665	5,534	27,399
		65	14,298	5,901	29,214

	7	45	15,165	4,5677	23,148
		55	15,365	4,3677	22,134
		65	16,432	3,301	16,729
	8	45	15,565	2,901	15,71
		55	15,832	2,6343	14,266
		65	17,999	0,4672	2,5299
Kontrol	6		20,199		
	7		19,733		
	8		18,466		



Gambar 7. Rerata konsentrasi Cu pada jenis isolat (D2,D95); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C

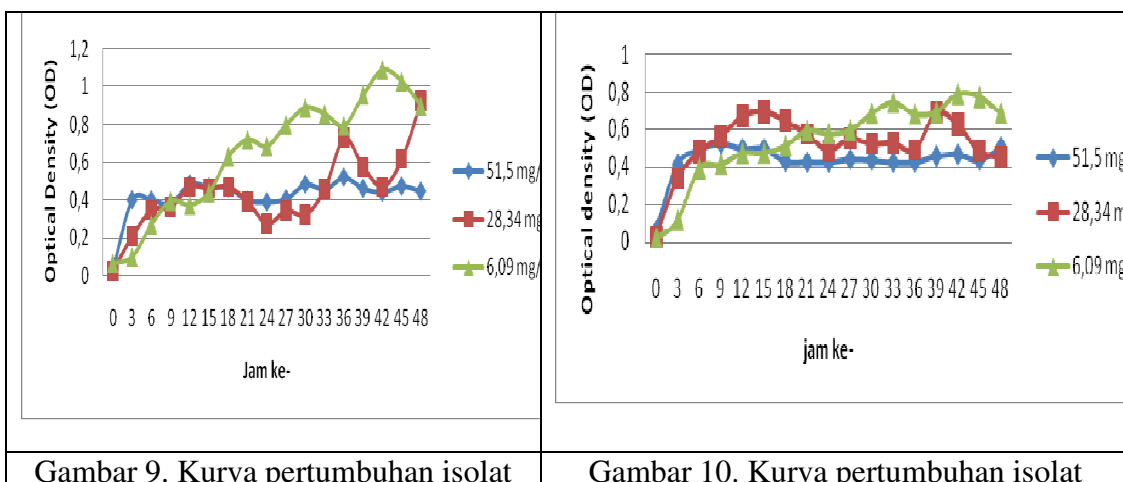
Kadar Cu setelah diinokulasi dengan bakteri menunjukkan penurunan dibandingkan kontrol. Kadar Cu bervariasi pada masing-masing pH dan suhu. Semakin rendah konsentrasi Cu yang terukur dibandingkan kontrol menunjukkan semakin tinggi persentase Cu yang terserap oleh sel bakteri. Kadar Cu terendah pada isolat D95; pH 6 suhu 65°C. Gambar 8 memperlihatkan persentase penyerapan Cu pada berbagai pH dan suhu oleh isolat D2 dan D95. Isolat D95 menunjukkan kemampuan lebih besar menyerap Cu dibandingkan D2 pada mayoritas pH dan suhu, kecuali pH 8 suhu 65°C. Persentase penyerapan Cu tertinggi oleh isolat D95 pada pH 6 suhu 65 °C sebesar 29,21% diikuti pada pH 6 suhu 55 °C yaitu 27,39%



Gambar 8. Rerata persentase penyerapan Cu oleh isolat D2 dan D95; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C

### Timbal (Pb)

Seleksi pada media yang mengandung Pb menunjukkan 22 isolat D2,D3,D11,D14,D15,D16,D17,D19,D32,D55,D91,D92,D93,D94,D95,D113,D132,D134,D135,D139,D140, dan D141 mampu tumbuh pada media NA mengandung logam Pb dengan konsentrasi maksimum mencapai 100 ppm. Namun pada media cair Isolat bakteri termofilik yang mampu hidup pada media mengandung timbal 50 ppm hanya 2 yaitu D2 dan D19. Kedua isolat tersebut kemudian diuji kemampuannya mereduksi atau menurunkan kadar timbal pada media pertumbuhan. Variasi konsentrasi yang digunakan dalam penelitian adalah 6,09 ppm; 28,34 ppm dan 51,5 ppm.



Gambar 9. Kurva pertumbuhan isolat

Gambar 10. Kurva pertumbuhan isolat

bakteri D2 pada media NB+Pb	bakteri D19 pada media NB+Pb
-----------------------------	------------------------------

Tabel 3. Konsentrasi Pb terserap pada medium dengan perlakuan variasi jenis isolat, konsentrasi awal Pb dan variasi waktu kontak (mg/L)

Jenis Isolat	Konsentrasi awal (ppm)	Konsentrasi Pb terserap (ppm)			Rerata Persentase penyerapan (%)		
		A	B	C	A	B	C
D2	51,5	7,34	12,19	34,97	9%	32%	70%
		2,02	20,81	37,45			
	28,34	1,75	9,26	13,71	16%	44%	66%
		7,24	15,62	23,43			
	6,09	2,04	4,64	5,51	33%	74%	90%
		2,04	4,36	5,51			
D19	51,5	1,91	6,18	16,41	3%	15%	29%
		1,21	9,07	13,7			
	28,34	3,2	15,05	22,25	7%	53%	69%
		0,59	15,05	16,58			
	6,09	0,89	2,33	6,09	15%	43%	95%
		0,89	2,91	5,51			

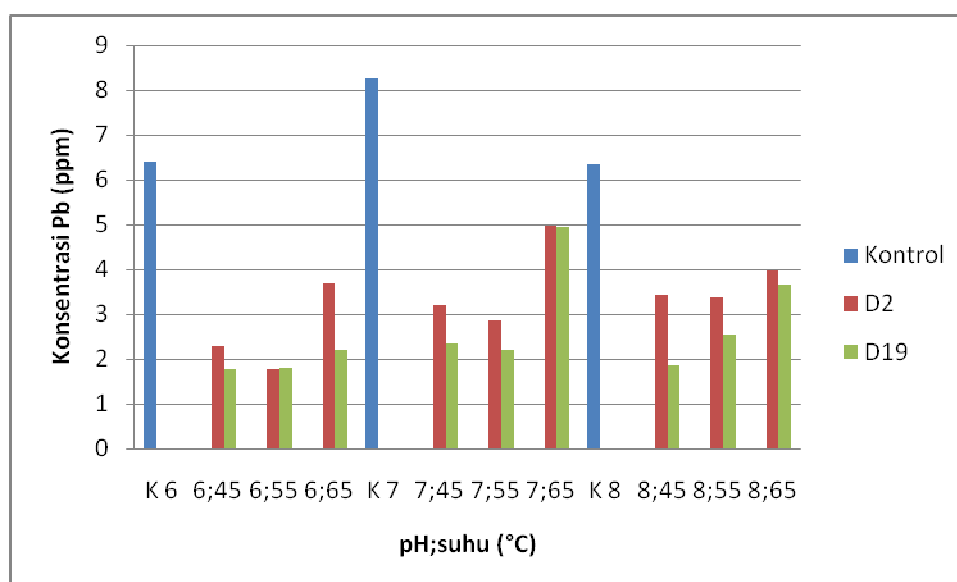
Ket : A = 0 jam, B = eksponensial, C = Stasioner

Isolat bakteri termofilik D19 mampu mereduksi Pb lebih tinggi daripada isolat D2. Persentase penyerapan tertinggi oleh isolat D19 mencapai 95% pada 6,09 mg/L sedangkan isolat D2 90% pada fase stasioner. Sedangkan untuk konsentrasi awal yang mampu terserap paling baik adalah pada konsentrasi awal 6 ppm jika dibanding dengan konsentrasi lain. Oleh karena itu tahap optimasi reduksi Pb dilakukan pada konsentrasi 6 ppm fase stasioner 48 jam pada pH 6,7 dan 8 serta suhu 45, 55, dan 65 °C. Data lengkap ada di lampiran sedangkan Tabel 4 dan Gambar 11 memperlihatkan perbedaan hasil konsentrasi Pb yang diperoleh.

Tabel 4. Rerata konsentrasi Pb dan persentase penyerapan Pb oleh isolat D2 dan D19 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi 48 jam

Isolat	pH	Suhu (°C)	Konsentrasi Pb (ppm)		Persentase Pb terserap (%)
			Sisa	Terserap	
D2	6	45	2,28	4,117	64,36
		55	1,782	4,614	72,135
		65	3,687	2,71	42,365
	7	45	3,463	4,786	58,017
		55	2,846	5,404	65,502

		65	4,956	3,294	39,924
	8	45	3,429	2,899	45,812
		55	3,378	2,951	46,629
		65	3,961	2,368	37,414
D19	6	45	1,765	4,632	72,409
		55	1,799	4,597	71,872
		65	2,211	4,186	65,439
	7	45	2,349	5,901	71,531
		55	2,211	6,038	73,198
		65	4,064	4,186	50,739
	8	45	1,868	4,461	70,485
		55	2,537	3,791	59,905
		65	3,669	2,659	42,017
Kontrol	6		6,396		
	7		8,249		
	8		6,328		

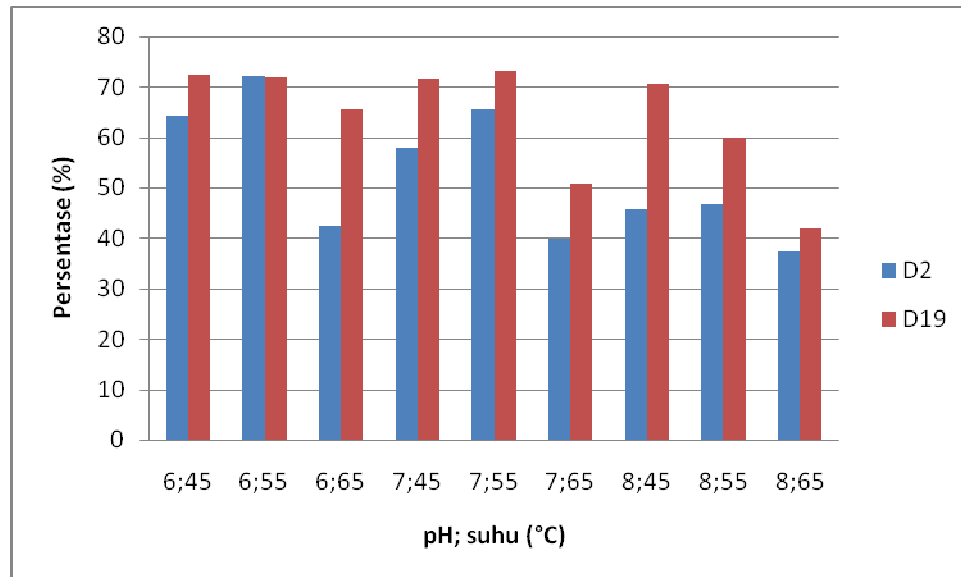


Gambar 11. Rerata konsentrasi Pb pada jenis isolat (D2,D19); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C

Konsentrasi Pb setelah diinokulasi dengan bakteri menunjukkan penurunan dibandingkan kontrol. Kadar Pb bervariasi pada masing-masing pH dan suhu. Semakin rendah konsentrasi Pb yang terukur dibandingkan kontrol menunjukkan semakin tinggi persentase Pb yang terserap oleh sel bakteri. Kadar Pb terendah pada isolat D19; pH 6 suhu 45 °C. Gambar 12 memperlihatkan persentase penyerapan Pb pada berbagai pH dan suhu oleh isolat D2 dan D19. Isolat D19 menunjukkan



kemampuan lebih besar menyerap Pb dibandingkan D2 pada mayoritas pH dan suhu. Persentase penyerapan Pb tertinggi oleh isolat D19 sebesar 73,19% pada pH 7 dan suhu 45 °C.

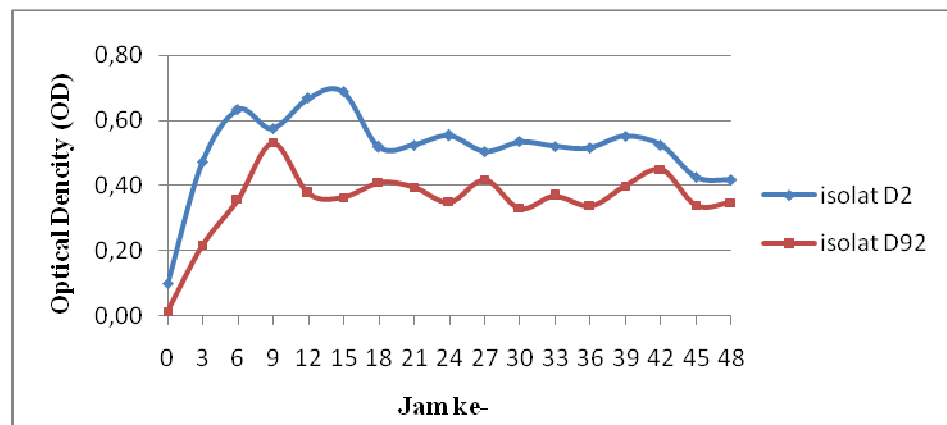


Gambar 12. Rerata persentase penyerapan Pb oleh isolat D2 dan D19; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C

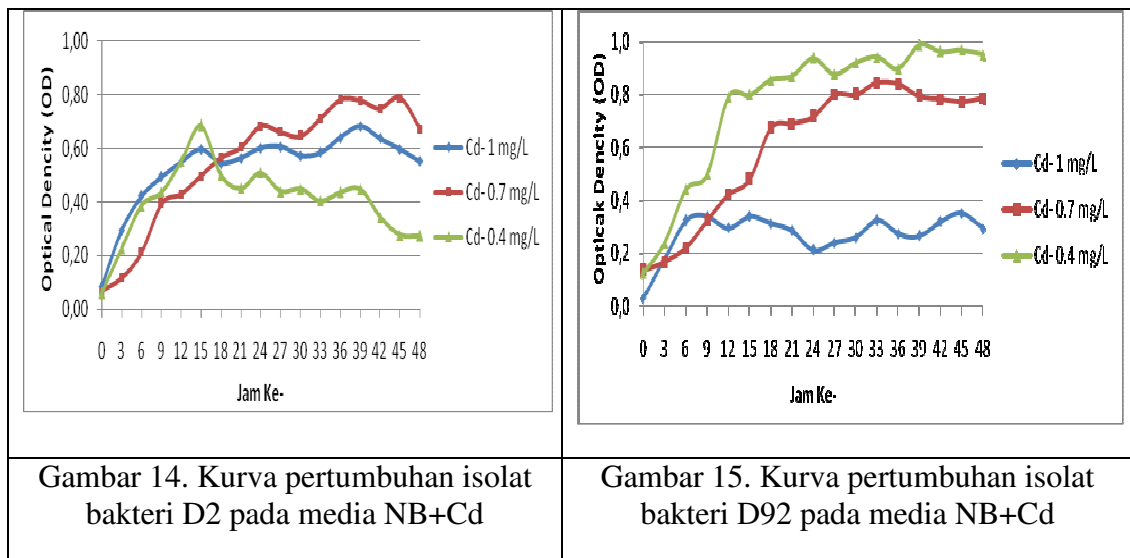
### Kadmium (Cd)

Hasil seleksi menunjukkan bahwa dari 28 isolat bakteri termofilik, terdapat 13 isolat dengan kode D2, D3, D14, D15, D17, D19, D32, D92, D93, D95, D113, D132, dan D140 mampu tumbuh pada media NA mengandung logam kadmium dengan konsentrasi maksimum 1ppm. Sedangkan pada konsentrasi lebih dari 1 ppm, tidak ada bakteri yang mampu tumbuh pada media tersebut. Berdasarkan hasil seleksi tersebut, maka variasi konsentrasi yang digunakan dalam penelitian sesungguhnya adalah 0,4 ; 0,7; dan 1,0 ppm. Isolat bakteri termofilik terpilih yaitu kode D2 dan D92. Berdasarkan karakterisasi yang telah dilakukan sebelumnya oleh Lutfi Febri P. (2012: 95) karakteristik kedua isolat bakteri termofilik tersebut (D2 dan D92) tidak jauh berbeda. *Matching profile* menunjukkan karakter sebesar 83,33% isolat D2 dan D92 mirip genus *Thermomicrobium*. Gambar 13 menunjukkan kurva pertumbuhan isolat D2 dan D92 pada media NB yang diinkubasi selama 48

jam pada suhu 55 °C sedangkan Gambar 2 dan 3 pada media NB yang mengandung Cd.



Gambar 13. Kurva pertumbuhan isolat bakteri D2 dan D92 pada media NB



Reduksi atau penurunan Cd oleh bakteri termofilik diamati dengan mengukur banyaknya sisa Cd yang terdapat di dalam media menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrometry*). Pengukuran menggunakan AAS menunjukkan bahwa konsentrasi awal media tanpa inokulum/bakteri adalah sebesar 0,35 ppm; 0,73 ppm; dan 1,09 ppm. Tabel 5 merupakan hasil pengukuran Cd yang menunjukkan bahwa isolat bakteri termofilik D2 dan D92 mampu mereduksi atau menurunkan konsentrasi Cd di dalam semua media perlakuan.

Tabel 5. Konsentrasi Cd terserap pada medium dengan perlakuan variasi jenis isolat, konsentrasi awal Cd dan variasi waktu kontak

Jenis	Konsentrasi	Konsentrasi Cd terserap	Rerata Persentase
-------	-------------	-------------------------	-------------------

isolat	awal (ppm)	(ppm)			penyerapan (%)		
		A	B	C	A	B	C
D2	0,4	0,07	0,14	0,24	19 %	39 %	57 %
		0,06	0,13	0,16			
	0,7	0,09	0,28	0,26	10 %	36 %	38 %
		0,05	0,24	0,30			
	1,0	0,00	0,30	0,37	6 %	29 %	32 %
		0,13	0,33	0,33			
D92	0,4	0,08	0,35	0,35	14 %	99 %	99 %
		0,02	0,34	0,35			
	0,7	0,00	0,51	0,42	3 %	64 %	78 %
		0,05	0,43	0,72			
	1,0	0,01	0,21	0,47	4 %	25 %	61 %
		0,07	0,33	0,85			

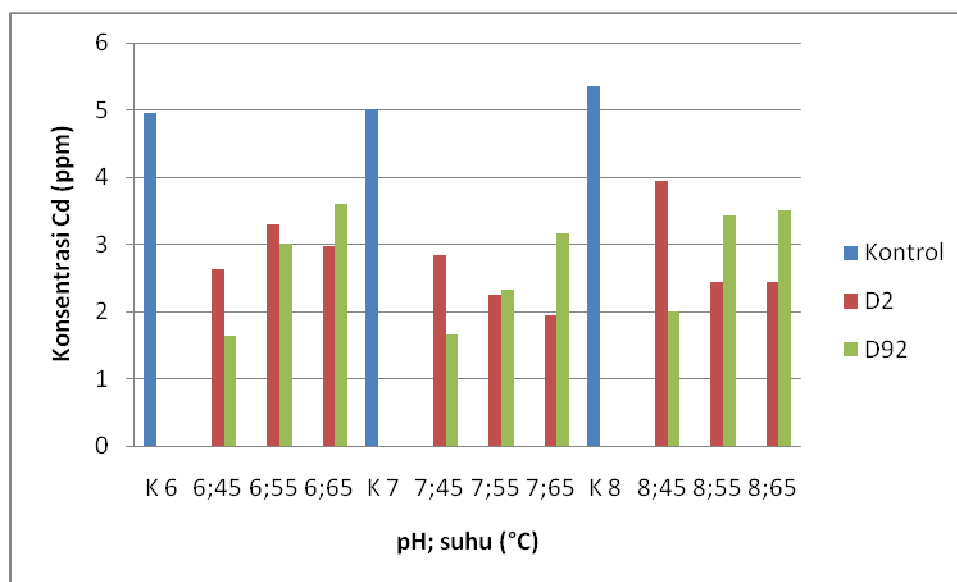
Ket : A = 0 jam, B = eksponensial, C = Stasioner

Isolat bakteri termofilik D92 mampu mereduksi Cd lebih tinggi daripada isolat D2. Persentase penyerapan tertinggi oleh isolat D92 mencapai 99% pada 0.4 ppm sedangkan isolat D2 hanya mencapai 57%.

Penelitian selanjutnya isolat bakteri ditumbuhkan pada media yang mengandung Cd sebesar 5 ppm ternyata mampu tumbuh sehingga tahap optimasi dilakukan pada 5 ppm dengan variasi pH dan suhu. Data lengkap ada di lampiran sedangkan Tabel 6 dan Gambar 16 memperlihatkan perbedaan hasil konsentrasi Pb yang diperoleh.

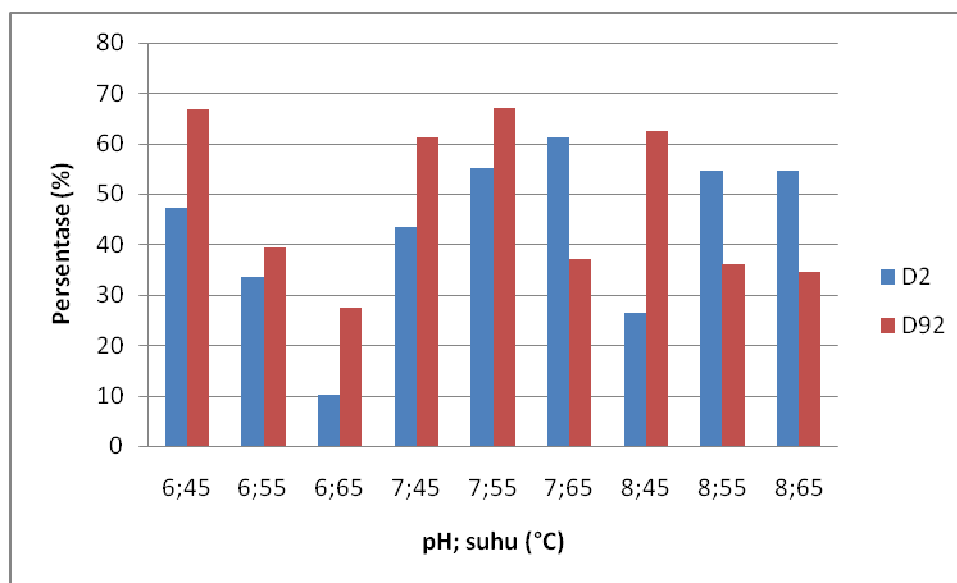
Tabel 6. Rerata konsentrasi dan persentase penyerapan Cd oleh isolat D2 dan D19 pada 45, 55, dan 65 °C selama waktu inkubasi 48 jam

Isolat	pH	Suhu (°C)	Konsentrasi Cd (ppm)		Persentase Cd terserap (%)
			Sisa	Terserap	
D2	6	45	2,617	2,342	47,227
		55	3,302	1,657	33,411
		65	2,966	1,994	40,199
	7	45	2,833	2,182	43,512
		55	2,254	2,760	55,049
		65	1,942	3,073	61,274
	8	45	3,948	1,409	26,296
		55	2,434	2,923	54,558
		65	2,43	2,927	54,639
D92	6	45	1,643	3,316	66,862
		55	3,008	1,951	39,336
		65	3,601	1,359	27,398
	7	45	1,656	3,358	66,975
		55	2,322	2,693	53,696
		65	3,159	1,856	37,011
	8	45	2,004	3,353	62,594
		55	3,423	1,934	36,096
		65	3,512	1,845	34,438
Kontrol	6		4,959		
	7		5,014		
	8		5,357		



Gambar 16. Rerata konsentrasi Cd pada jenis isolat (D2,D92); pH (6,7,8); dan suhu 45, 55, dan 65 °C

Konsentrasi Cd setelah diinokulasi dengan bakteri menunjukkan penurunan dibandingkan kontrol. Kadar Cd bervariasi pada masing-masing pH dan suhu. Semakin rendah konsentrasi Cd yang terukur dibandingkan kontrol menunjukkan semakin tinggi persentase Cd yang terserap oleh sel bakteri. Kadar Cd terendah pada isolat D92; pH 6 suhu 45 °C. Gambar 17 memperlihatkan persentase penyerapan Cd pada berbagai pH dan suhu oleh isolat D2 dan D92. Isolat D92 menunjukkan kemampuan lebih besar menyerap Cd dibandingkan D2 pada mayoritas pH 6 pada semua suhu. Pada pH 7 persentase penyerapan D92 lebih tinggi pada suhu 45 dan 55 °C. Sedangkan pada pH 8 kemampuan D2 lebih tinggi dibandingkan D92 pada suhu 55 dan 65 °C. Persentase penyerapan Cd tertinggi sebesar 66,97% oleh isolat D92 pada pH 7 suhu 55 °C.



Gambar 17. Rerata persentase penyerapan Cd oleh isolat D2 dan D92; pada pH (6,7,8); serta suhu 45, 55, dan 65 °C

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan masing-masing isolat bakteri termofilik menunjukkan perbedaan konsentrasi, waktu inkubasi, suhu, dan pH optimal. Hal ini karena biosorpsi ion logam berat menggunakan mikroorganisme dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain seperti temperatur, pH, konsentrasi awal larutan, dan konsentrasi biomassa. Temperatur dalam kisaran 45 °C - 65 °C karena menggunakan bakteri termofilik maka memiliki rentang suhu yang lebih luas yaitu antara 40 °C - 80 °C dan temperatur optimumnya biasanya 50 °C.

Menurut Noer Komari *et al.*, (2012: 558) faktor yang sangat mempengaruhi terhadap biosorpsi adalah pH dan waktu kontak. pH akan mempengaruhi situs aktif biomassa untuk berinteraksi dengan kation. pH juga mempengaruhi spesies logam dalam larutan sehingga mempengaruhi terjadinya interaksi ion logam dengan situs aktif adsorben. Mallick and Rai (1993: 196-201) mengemukakan derajat keasaman (pH) mempunyai pengaruh besar pada aktivitas mikroba untuk mengatasi limbah logam berat. Aktivitas mikroba dalam bioleaching membutuhkan suasana asam, sedangkan untuk bioakumulasi cenderung netral. Bioleaching merupakan aktivitas mikroba untuk melarutkan logam berat dari senyawa yang mengikatnya dalam bentuk ion bebas. Biasanya mikroba menghasilkan asam dan senyawa pelarut untuk membebaskan ion logam dari senyawa pengikatnya. Pada pH basa ion logam secara spontan akan bereaksi dengan ion hidroksida membentuk ikatan logam-hidroksida, sedangkan pada pH asam akan terjadi persaingan antara ion logam dengan ion  $H^+$  untuk berikatan dengan dinding sel mikroba. Hal ini yang menyebabkan akumulasi pada pH netral lebih besar dibanding dengan pH asam maupun basa.

Faktor selain pH yang mempengaruhi proses adsorpsi adalah waktu kontak. Umumnya pengikatan ion logam oleh adsorben terjadi pada awal reaksi dan pada reaksi selanjutnya akan berjalan seragam, atau bahkan bisa terjadi penurunan karena dinding sel biomassa sudah mengalami dekomposisi lebih lanjut. Bila ion logam macamnya lebih dari satu jenis dalam larutan yang akan dikontakkan dengan biomassa, umumnya akan terjadi persaingan antar ion logam pada proses biosorpsi (Ishak Isa dan Yuliana Retnowati, 2014: 16).

Jenis limbah dan konsentrasi logam berat juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhi bakteri di dalam proses penyerapan logam. Tingginya kadar logam

berat mengakibatkan pertumbuhan bakteri terganggu bahkan menyebabkan matinya sejumlah bakteri yang tidak tahan terhadap logam tersebut. Hal ini disebabkan karena setiap bakteri memiliki toleransi yang berbeda terhadap logam berat. Penyerapan logam berat oleh setiap jenis bakteri berbeda (Ishak Isa dan Yuliana Retnowati, 2014: 17).

Perbedaan penyerapan oleh setiap jenis bakteri diakibatkan oleh produk metabolik yang dihasilkan selama proses berlangsung. Secara garis besar dapat dikatakan bahwa proses penyerapan logam berat oleh bakteri bergantung pada beberapa faktor yaitu; jenis dan komposisi logam berat dalam limbah, kemampuan bakteri untuk melakukan penyerapan, dan faktor lingkungan yang mempengaruhi aktivitas bakteri.

Hal tersebut dimungkinkan karena pertumbuhan bakteri terhambat oleh adanya logam berat yang ada dalam media. Secara umum efek logam terhadap sel mikroorganisme adalah dengan menghambat aktivitas enzim, misal enzim yang tersusun oleh asam amino sistein, gugus sulfhidrilnya akan tergantikan oleh ion logam  $Cd^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$ , dan  $Cd^{2+}$  sehingga enzim tersebut kehilangan aktivitasnya (Ryan W.A.K dan Enny Zulaika, 2014: 73). Keadaan tersebut mempengaruhi proses metabolisme sel yang mengakibatkan jumlah sel yang dihasilkan menurun.

Pengujian sampel menggunakan AAS (*Atomic Absorption Spectrometry*) menunjukkan bahwa isolat bakteri termofilik mampu menurunkan konsentrasi logam berat di dalam semua media perlakuan. Penurunan konsentrasi logam berat dalam media tersebut dimungkinkan karena ion logam berat diserap oleh bakteri yang ada dalam media. Komposisi membran sel bakteri terdiri atas bahan organik dan anorganik sehingga terjadi pengikatan ion logam dengan membran sel bakteri (M. Badjoeri dan Hafidh Z., 2010: 550).

Menurut Susilawati (2009: 29) kemampuan bakteri dalam menurunkan konsentrasi logam berat pada media pertumbuhan disebabkan karena bakteri memiliki kemampuan mengakumulasi logam berat melalui dua mekanisme yaitu mekanisme *active uptake* dan *passive uptake*. Bioakumulasi merupakan contoh mekanisme *active uptake*, yakni melibatkan metabolisme pada sel-sel hidup untuk pertumbuhan atau akumulasi intraseluler logam tersebut. Sedangkan contoh mekanisme *passive uptake* adalah biosorpsi, yaitu penyerapan logam yang terjadi

karena interaksi ion logam dengan permukaan sel bakteri yang telah mati. Bakteri memiliki permukaan sel yang bermuatan negatif karena terbentuk dari berbagai struktur anion sedangkan logam berat adalah ion bermuatan positif sehingga dapat terjadi ikatan antara permukaan sel bakteri dan ion logam berat (Awalina Satya *et al.*, 2012: 571).

Berdasarkan hasil karakterisasi diketahui bahwa semua isolat bakteri termofilik terpilih yaitu D2, D19, D92, dan D95 merupakan bakteri Gram negatif. Pengikatan logam berat oleh bakteri Gram negatif melibatkan lapisan peptidoglikan dan membran luar yang terdiri dari struktur bilayer yang tersusun atas fosfolipid pada bagian dalam dan lipopolisakarida pada bagian luarnya (Agustien N., 2005: 35). Pengikatan logam berat oleh bakteri Gram negatif juga ditemukan pada selubung sel atau pada komponen membran sel di bagian gugus fosfat dari lipopolisakarida.

lapisan lipopolisakarida yang bersifat anionik sehingga dapat berikatan dengan ion logam  $\text{Cu}^{2+}$  yang bersifat kation. Madigan, *et al.*, (2009: 183) mengungkapkan bahwa bakteri Gram negatif kemampuan mengikat logam diduga karena adanya lapisan lipopolisakarida (LPS) yang bersifat sangat anionik pada membran luar. Lipopolisakarida merupakan polisakarida yang terikat membran melalui bagian lipid yang tersisipkan pada lapisan tunggal fosfolipid sedangkan bagian sakarida berada pada bagian luar (Frayse et al. 2003 dalam Ade Noor S, *et al.*, 2005: 108-111). Telaah interaksi ion logam dan dinding sel bakteri Gram positif terutama *Bacillus* sp. menunjukkan adanya peranan gugus karboksil pada peptidoglikan dan atau gugus fosforil pada polimer sekunder asam teikoat dan teikuronat.

Mekanisme pengikatan ion logam tidak lepas dari karakter anion dan sifat fisikokimia dari dinding sel, sehingga ion logam berat (kation) mampu diikat secara adesi (McLean R.J.C., *et al.*, 1994: 472-474). Penelitian ini menggunakan ion logam  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , dan  $\text{Cd}^{2+}$  (kation) dan dimungkinkan dinding sel bakteri berupa anion maka mampu mengikat secara adesi oleh permukaan sel bakteri termofilik. Sehingga kadar logam pada media pertumbuhan bakteri dapat berkurang karena diikat oleh dinding sel. Kemungkinan tersebut terjadi jika pengikatan logam terjadi secara ekstraseluler.

Struktur permukaan bakteri merupakan penghalang fisik dan fungsional antara sel bakteri dan lingkungan. Berbagaimolekul kompleks pada permukaan sel antara



lain gugus kimiafosforil, karboksil, dan amino pada pH fisiologis dapat memberimuatan negatif atau anionik yang akan berinteraksi dengan anion atau molekul bermuatan yang berada pada lingkungan luar. Akibatnya kation logam secara elektrostatis akan terikat pada permukaan sel (Langley & Beveridge 1999 dalam Ade Noor S, *et al.*, 2005: 108).

Menurut Dirayah dan Irna (2005: 28) kemampuan mikroorganisme untuk mereduksi logam berat dipengaruhi oleh jenis bakteri dan metode kulturisasinya. Bakteri Gram negatif mengikat kurang lebih sepersepuluh dari jumlah logam yang terikat pada bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif umumnya lebih toleran terhadap pengaruh logam berat dibandingkan bakteri Gram positif, karena struktur dinding selnya yang kompleks di mana dapat mengikat dan mengimobilisasi sebagian besar ion logam termasuk  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ , dan  $\text{Cd}^{2+}$ . Logam-logam tersebut terikat pada gugus karboksil pada rantai peptida dari peptidoglikan dan gugus fosfat dari lipopolisakarida.

Proses penyerapan dengan mekanisme biosorpsi (*passive uptake*) dapat terjadi melalui pertukaran ion monovalen dan divalen seperti Na, Mg, dan Ca pada dinding sel yang kemudian digantikan oleh ion-ion logam berat. Menurut Javanbakht *et.al.* (2014: 79) penyerapan logam berat juga terjadi melalui pembentukan formasi kompleks antara ion logam berat dengan gugus fungsional seperti karbonil, amino, hidroksi, fosfat, dan hidroksi-karbonil yang terdapat pada dinding sel. Bakteri juga mampu mengakumulasi logam berat di dalam sel dengan membentuk ikatan antara logam dengan protein pengikat logam yaitu *metallothionein* (MTs) (Rajendran P *et.al.*, 2003: 938).

Fase optimum penyerapan logam berat oleh semua isolat adalah pada fase stasioner. Fase stasioner merupakan suatu keadaan seimbang antara laju pertumbuhan dan laju kematian. Sel bakteri mulai mati karena mulai habisnya nutrisi pada media, sedangkan sel hidup akan tumbuh dan membelah sehingga jumlah keseluruhan bakteri yang hidup akan tetap. Penyerapan logam berat paling tinggi pada fase stasioner dimungkinkan karena sel bakteri yang hidup mampu memanfaatkan logam berat pada media pertumbuhan yang digunakan untuk aktivitas metabolisme. Sel bakteri yang mati mengalami proses *passive uptake* karena pada

mekanisme tersebut terjadi pengikatan logam pada permukaan membran sel. Sehingga penyerapan logam berat lebih tinggi dibanding pada fase eksponensial.

Absorpsi logam berat terjadi melalui dua proses yaitu *active uptake* dan *passive uptake*. *Active uptake* terjadi pada berbagai tipe sel hidup. Mekanisme ini secara simultan terjadi sejalan dengan konsumsi ion logam untuk pertumbuhan mikroba dan akumulasi intraseluler ion logam tersebut. *Passive uptake* terjadi ketika ion logam berat terikat dengan dinding sel biosorben. Mekanisme ini dapat dilakukan dengan cara pertukaran ion, yaitu ion pada dinding sel diganti oleh ion logam berat atau dengan cara pembentukan senyawa kompleks antara ion-ion logam berat dengan gugus fungsional seperti karbonil, amino, tiol, hidroksil, fosfat dan hidroksi-karboksil secara bolak balik dan cepat (Suhendrayatna, 2001: 1-15).

## **BAB VI**

### **RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA**

1. Karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri terpilih sehingga dapat diketahui genus bahkan dimungkinkan sampai tingkat spesies.
2. Aplikasi bakteri termofilik secara *in vivo* pada berbagai limbah yang mengandung logam berat.
3. Pengujian kualitas limbah yang mengandung logam berat setelah diberi bakteri termofilik .

## **BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN**

### **Kesimpulan**

1. Isolat bakteri termofilik pasca erupsi Merapi yang resisten terhadap 30 ppm Cu sejumlah 18 isolat, konsentrasi Pb 50 ppm sebanyak 22 isolat, sedangkan 13 isolat dapat resisten pada konsentrasi Cd 1 ppm.
2. Bioremediasi logam berat optimum dengan waktu inkubasi 48 jam oleh isolat D95 pada 20 ppm Cu, pH 6, dan suhu 65 °C sebesar 29,21%. Konsentrasi 8 ppm Pb optimum oleh isolat D19 sebesar 73,19% pada pH 7 dan suhu 45 °C. Sedangkan penyerapan 5 ppm Cd optimum sebesar 66,97% oleh isolat D92 pada pH 7 dan suhu 55 °C.

### **Saran**

1. Dilakukan pengujian AAS terhadap sampel bakteri (*pellet*) untuk memastikan bahwa logam berat benar-benar terserap oleh sel bakteri.
2. Penelitian lanjutan dengan menggunakan isolat bakteri termofilik lain yang belum dilakukan pengujian sehingga diketahui potensinya sebagai penyerap logam berat.

3. Penelitian ini dapat ditindaklanjuti dengan menggunakan limbah yang tercemar logam berat untuk mengetahui keefektifan dari metode penyerapan dengan menggunakan bakteri termofilik asal Kali Gendol atas pasca erupsi merapi.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ade Noor Syamsudin, Tedja-Imas, dan Suminar Setiati Achmadi. 2005. Bioakumulasi Logam Berat oleh Beberapa Galur *Bradyrhizobium japonicum*. *Hayati*. Vol. 12 No. 3 hlm. 108-111 ISSN 0854-8587
- Ahalya, N, Ramachandra, T. V, and Kanamadi. 2003. *Biopsorption of Heavy Metals*. Journal research of Chemistry and Environment.
- Alisyahdani, F. 2004. *Pengurangan Konsentrasi Uranil Nitrat oleh Bakteri Resisten Uranium*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Anna Rakhmawati dan Evy Yulianti. 2012. Eksplorasi bakteri termofilik pasca erupsi Merapi sebagai penghasil enzim ekstraseluler. *Jurnal Saintek* Vol 17 no 1
- Anna Rakhmawati, Evy Yulianti, dan Eli Rohaeti. 2013. Pengembangan bakteri termofilik pasca erupsi Merapi sebagai penghasil enzim termostabil. Laporan penelitian belum dipublikasikan
- Anna Rakhmawati, Evy Yulianti, dan Eli Rohaeti. 2014. Seleksi Bakteri Termofilik Selulolitik Pasca Erupsi Merapi. *Jurnal Kaunia*. Edisi Oktober
- Anonim. 2015. Sungai Wai Apo tercemar Merkuri. Kompas, 5 Februari 2015
- Awalina Satya Dan Sekar Larashati. 2012. Kemampuan Isolat Bakteri Dari Sedimen Situ Sebagai *Aquatic Bioremoval Agent* Ion Logam Timbal (Pb). *Prosiding*

*Seminar Nasional Limnologi VI Tahun 2012* Crawford R.L and Don, L.C. 1998. *Bioremediation: Principles and Applications*. Melbourne: Cambridge University Press

Dirayah R.H. dan Irna H.M. 2005. Bakteri Pengkompleks Logam Pb dan Cd dari Limbah Cair PT. Kawasan Industri Makassar. *Jurnal Marina Chimica Acta*, April 2005. Universitas Hasanuddin. Hal. 25-28 Vol. 6 No.1.

Gazso, L. G. 2001. The key microbial in the removal of toxic metal and radionuclides from the enviroment. *Journal CEJOEM* 7.

Gomes, N. C. M., Mendonça-Hagler, L. C. S. and Savaidis, I. 1998. Metal Biorremediation by Microorganisms. *Rev. Microbiol.* 29: 85-92.

Henggar Hardiani, Teddy Kardiansyah, dan Susi Sugesty. 2011. Bioremediasi Logam Timbal (Pb) dalam tanah terkontaminasi limbah *sludge* industri kertas proses *deinking*. *Jurnal Selulosa* Vol 1 no 1 :31-41

Ishak Isa dan Yuliana Retnowati. 2014. Pemanfaatan Berbagai Jenis Bakteri dalam Proses Bioleaching Limbah Logam Berat. *Laporan Akhir Penelitian Fundamental*. Universitas Negeri Gorontalo Jasmidi, Mudjiran E S. 2010. Pengaruh Lama dan Kondisi Penyimpanan Biomassa terhadap Biosorpsi Timbal (II) dan Seng (II) oleh Biomassa *Saccharomyces cerevisiae*. *Indonesian jurnal of Chemistry*.

Latmani, R. B, Leckie, J and Spormann, A. 2000. *Interactions of Pseudomonas Fluorescens with Uranyl*. Conference abstract 5. United Kingdom: Cambridge Publication.

Ledin, M., and K. Pedersen, 1996. *The environmental impact of mine wastes– Roles of microorganisms and their significance in treatment of mine wastes*. Earth-Science Reviews 41

Lutfi Febri P. 2012. Isolasi dan Uji Aktivitas Enzim Amilase dari Isolta Bakteri Termofilik Amilolitik Pasca Erupsi Merapi pada Berbagai Variasi Suhu dan pH. *Skripsi*. Yogyakarta : Universitas Negeri Yogyakarta Kusnanto. 2005. *Bakteri Pengikat Stronsium Pada Limbah Radioaktif cair Aktivitas Rendah*. Skripsi. Yogyakarta : Fakultas Biologi UNiversitas Gajah Mada.

Nies, D.H. 1999. Microbial metal resistance. *Jurnal Appl Microbiol Biotechnol* 51.

Noer Komari, Umi Baroroh L. I, Noor Malinda. 2012. Adsorpsi  $Pb^{2+}$  dan  $Zn^{2+}$  pada Biomassa *Imperata cylindrical*. *Jurnal Valensi* Vol. 2 No. 5, Nopember 2012 (557-564. Universitas Lambung Mangkurat .Kalimantan Selatan.

Madigan M.T., J.M. Martinko, P.V. Dunlap, and D.P. Clark. (2009). *Brock Biology of Microorganisms 12<sup>th</sup> ed.* USA : Pearson Education Inc. Publishing as Pearson Benjamin Cummings

- Mallick, N., and L.C. Rai. 1993. Influence of Culture Density, pH, Organic Acid, and Divalent Cations the Removal of Nutrients and Melt by Immobilized *Anabaena doliolum* and *Chlorella vulgaris*. *World Jurnal of Microbiology & Biotech.* 196-201
- Maya Shovitri, Enny Zulaika, dan Maharani P.K. 2010. Bakteri Tahan Merkuri dari Kali Mas Surabaya berpotensi sebagai agen Bioremediasi Merkuri. *Berk. Penel. Hayati Edisi khusus* 4F : 25-29
- McLean R.J.C., Campbell A.M, Khu P.T. Persand A.T. Bickerton, L.E., Beauchemin, D. 1994. Repeated Use of *Bacillus subtilis* cell walls for Copper binding. *World Journal of Microbiol. & Biotech.* 10: 472-474
- Muhammad Badjoeri dan Hafidh Zarkasyi. 2010. Isolasi Dan Seleksi Bakteri Bioremoval Logam Berat Merkuri. *Prosiding Seminar Nasional Limnologi V tahun 2010*. Pusat Penelitian Limnologi LIPI.
- Rajendran P., J. Muthukrishnan, and P. Gunasekaran. 2003. Microbes in Heavy Metal Remediation. *Indian Journal of Experimental Biology*. Vol.41:935-944.
- Rizani, Anshari, Zakhroful Maiumun, Rini Widyawati. 2010. *Pencemaran Tanah dan Air Tanah Penanganan Pencemaran Tanah Oleh Kromium (Cr)*. Kalimantan selatan : Prodi Teknik Lingkungan Fak. Teknik Universitas Lambung Mangkurat. Kalimantan Selatan
- Ryan Widi Anggar Kusuma dan Enny Zulaika. 2014. Potensi *Chlorella* sp. sebagai Bioakumulator Logam Berat Kadmium. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol. 3, No. 2, (2014) ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print). Surabaya : Institut Teknologi Sepuluh Nopember.
- Sartji taberima. 2004. *Peranan mikroorganisme Dalam mengurangi efek toksik Pada tanah terkontaminasi logam berat*. Makalah falsafah sains (pps 702). Bogor: Program Pasca Sarjana/S3 Institut Pertanian Bogor.
- Spain, A. 2003. *Implication of microbial heavy metal tolerance in the environment*. Review in Undergraduate Research 2.
- Suh, J. H. , J. W. Yun, D. S. Kim, 1999. Effect of pH on Pb<sup>2+</sup> accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans*. *Journal Bioprocess Engineering* 20.
- Suhendrayatna. 2001. *Bioremoval Logam Berat Dengan Menggunakan Mikroorganisme: Suatu Kajian Kepustakaan*. Jepang: Department of Applied Chemistry and Chemical Engineering Faculty of Engineering, Kagoshima University
- Susilawati. 2009. Studi Biosorpsi Ion Logam Cd (II) Oleh Biomassa Alga Hijau yang Dimobilisasi Pada Silika Gel. *Skripsi*. Depok : Universitas Indonesia.

- Volesky, and Holan, Z.S. 1995. *Biosorption of heavy metals*. Journal of Biotechnology, Vol 3.
- Wesley, E, 1989. *Industrial water pollution control*, second edition, Mc Graw-Hill Book company, International edition, Singapore
- Yu Tian. 2008. Behavior of Bacterial Extracellular Polymeric Substance from Activated Sludge: A Review, *International Journal of Environment and Pollution*, Vol 32, No. I, Interscience Enterprises Ltd, China
- Zainus salimin, Endang nuraeni, Mirawaty, Cerdas tarigan. 2009. *Perancangan Unit Keteknikan Proses Oksidasi Biokimia Untuk Pengolahan Limbah Cair Organik Radioaktif* diakses dari [http://khup.com/download/30\\_keyword-tbp\\_d2ehpa/microsoft-word-d-11-yainus.pdf](http://khup.com/download/30_keyword-tbp_d2ehpa/microsoft-word-d-11-yainus.pdf) pada tanggal 12 Desember 2014

### Lampiran 1. Dokumentasi penelitian



AAS



Autoklaf



Waterbath



pH meter



Hot plate



Botol kultur



Spektrofotometer

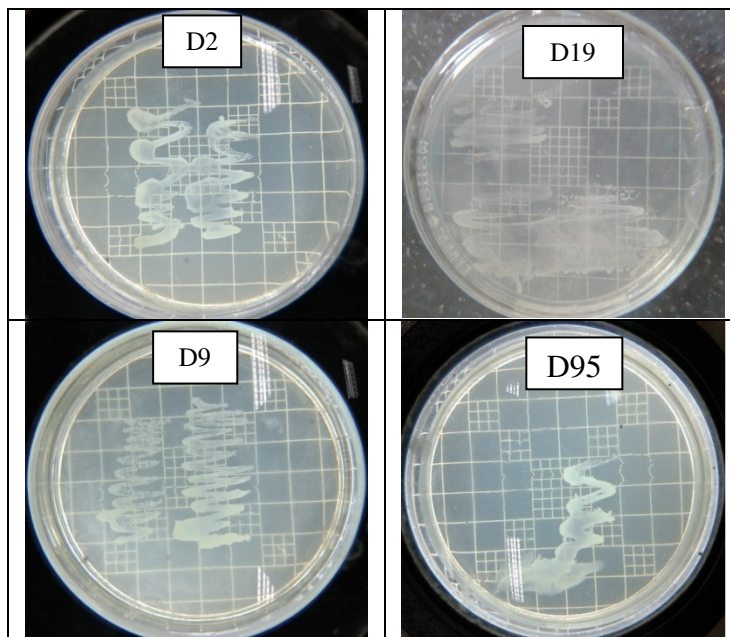


LAF



Media NA

Isolat bakteri yang digunakan





# *Lampiran 4*

# *Lampiran 5*